



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

***Papel de las vesículas extracelulares y los microRNA en el
desarrollo de la aterosclerosis***

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGICO

PRESENTA

CHRISTIAN DANIEL MEZA JUÁREZ



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: M. en C. Alicia Beatriz Cervantes Peredo

VOCAL: Dr. Francisco Javier Plasencia de la Parra

SECRETARIO: Dra. Leonor Jacobo Albavera

1er. SUPLENTE: M. en C. Enrique de León Lara

2° SUPLENTE: Dr. Alberto Ortega Vázquez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: Vía remota. Se utilizaron las bases de datos PubMed y ScienceDirect Elsevier.

Laboratorio de Genómica de Enfermedades Cardiovasculares.

Instituto Nacional de Medicina Genómica.

ASESOR DEL TEMA: Dra. Leonor Jacobo Albavera

SUSTENTANTE: Christian Daniel Meza Juárez

Contenido

A. Lista de abreviaturas	4
B. Índice de tablas	11
C. Índice de figuras	12
Resumen	13
1. Justificación	14
2. Alcance	15
3. Objetivos	15
4. Metodología de la investigación	16
5. Introducción	17
5.1 Aterosclerosis	17
5.1.1 Definición de aterosclerosis	17
5.1.2 Etapas de la aterosclerosis	17
5.1.3 Fisiopatología de la aterosclerosis	21
5.2 Vesículas extracelulares	28
5.2.1 Características de las vesículas extracelulares	28
5.2.2 Clasificación de las vesículas extracelulares	29
5.3 microRNA	32
5.3.1 ¿Qué son los microRNA?	32
5.3.2 Biogénesis de los microRNA	33
5.3.2.1 Biogénesis canónica	33
5.3.2.2 Biogénesis no canónica	37
5.3.3 Mecanismos del silenciamiento génico mediado por microRNA	38
6. Función de las vesículas extracelulares en la calcificación coronaria y en la aterosclerosis	41
7. Papel de los microRNA en la calcificación coronaria y el desarrollo de aterosclerosis	47
8. Las vesículas extracelulares y microRNA como biomarcadores de aterosclerosis	73
9. Discusión	77
10. Conclusiones	98
11. Referencias	100

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Significado
ABCA1	Transportador dependiente de ATP A1
ABCG1	Transportador dependiente de ATP G1
ACAN	Gen que codifica para la proteína aggrecan
ACE2	Enzima convertidora de angiotensina 2
ACTA2	Gen de la actina α 2 del músculo liso
AF	Fibroblastos adventicios
AGO	Argonauta
AHA	Asociación Americana del Corazón
AI	Angina inestable
AKT	Proteína cinasa B
APJ	Receptor de apelina
APOA-I	Apolipoproteína A-I
ATG2B	Proteína 2B relacionada con la autofagia
AXL	Receptor de la tirosina cinasa AXL
BCL6	Linfoma 6 de células B
bFGF	Factor de crecimiento de fibroblastos básico
BIR2	Dominios repetidos IAP de baculovirus
BMP2	Proteína morfogénica ósea 2
<i>Bmp7</i>	Gen de la proteína morfogénica ósea 7
BNP	Péptido natriurético de tipo B
Ca²⁺	Ion calcio
CAF1	Factor de ensamblaje de la cromatina 1
CaMKII	Calmodulina
CaN	Calcineurina
CAT	Catalasa
CCND1	Ciclina D1
CCR4-NOT	Complejo de represión de catabolitos de carbono 4- negativo en TATA-menos.
CE	Células endoteliales

circRNA	RNA circular
CLIC4	Canal intracelular de cloruro 4
CLR	Receptores de lectinas tipo c
CNN1	Gen de la calponina 1
COL2A1	Cadenas alfa 1 del colágeno tipo II
CPT1A	Carnitina palmitoiltransferasa 1A
CROT	CarnitinaO-octanoiltransferasa
CSE	Gen de la cisteína γ -liasa
CXCL12	Ligando de quimiocinas motivo C-X-C12
CX3CR1	Receptor 1 de quimiocina CX3C
CYP7B1	Enzima metabolizadora de oxisterol y esteroide 7-alfa-hidroxilasa
DAMP	Patrones moleculares asociados al daño
DCP2	Proteína de desencadenamiento catalítico principal 2
DDR-1	Receptor de colágeno con dominio de discoidina 1
DGCR8	Proteína de la región crítica del síndrome de DiGeorge 8
DLK-1	Proteína 1 de tipo delta
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DUSP-8	Fosfatasa de doble especificidad 8
EAC	Enfermedad arterial coronaria
EVC	Enfermedad vascular cerebral
EDN1	Gen de la endotelina 1
EGR1	Proteína de respuesta de crecimiento temprano 1
ELA	Péptido hormonal conocido como elabeba
eIF4A	Factor de iniciación de la traducción eucariota 4A
eIF4F	Factor de iniciación de la traducción eucariota 4F
eIF4G	Factor de iniciación de la traducción eucariota 4G
ELK-1	Proteína 1 que contiene el dominio ETS
eNOS	Óxido nítrico sintetasa endotelial
ESCRT	Proteínas de la vía del complejo de clasificación endosomal necesario para el transporte
ESE	Endosoma de clasificación temprana

ET1	Endotelina 1
EV	Vesícula Extracelular
EVI1	Proteína homóloga del sitio de integración del virus ecotrópico 1
EXP5	Exportina 5
FOXO1	Proteína de caja <i>forkhead</i> O1
FXR	Receptor farnesoide X
FZD	Receptor Frizzled
F11R	Gen del receptor F11
GATA6	Proteína de unión a GATA 6
GDP	Difosfato de guanosina
GTP	Trifosfato de guanosina
HAEC	Células endoteliales de aorta humana
HASMC	Células de músculo liso vascular de arterias humanas
HA-VSMC	Células del músculo liso vascular de aorta humana
HBP1	Factor de transcripción asociado a la caja HMG (grupo de alta movilidad)
HDAC1	Histona deacetilasa 1
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HIV	Virus de la inmunodeficiencia humana
HMGB1	Proteína de la caja 1 del grupo de alta movilidad
hs-Tn	Troponina de alta sensibilidad.
HUVEC	Células endoteliales de vena umbilical humana
IAM	Infarto agudo de miocardio
IAMCEST	Infarto de miocardio con elevación de segmento ST
ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular 1
IFN-γ	Interferón gamma
IKK	Inhibidor de la cinasa del factor de transcripción nuclear kappa B
IL	Interleucina
IL-1R	Receptor de la interleucina 1
ILV	Vesículas intraluminares

INEGI	Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática
IRAK	Cinasa asociada al receptor de la interleucina 1
IRF3	Factor regulador de interferón 3
ISEV	Sociedad Internacional de Vesículas Extracelulares
JACK	Cinasa activada por Janus
JNK	Cinasa N-terminal c-jun
KDM1A	Lisina desmetilasa 1
KEAP1	Proteína 1 asociada a ECH de tipo Kelch
KHSRP	Proteína reguladora del empalme de tipo KH
KLF2	Factor 2 de tipo Krüppel
KLF4	Factor 4 de tipo Krüppel
KLF5	Factor 5 de tipo Krüppel
LDL	Lipoproteína de baja densidad
LDL-C	Colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad
Lin28B	Homólogo B de lin-28
lncRNA	RNA largo no codificante
LSE	Endosomas de clasificación tardía
LXRα	Receptor X hepático α
MAL	Proteína tipo adaptador MyD88
MAPK1	Proteína cinasa 1 activada por mitógenos
MCP-1	Proteína quimioatrayente de monocitos 1
MDM2	Proteína ligasa de ubiquitina E3 Mdm2
MD2	Factor de diferenciación mieloide 2
MECP2	Proteína de unión a metil-CpG 2
MIF	Factor inhibidor de la migración de macrófagos
miRNA	MicroRNA
MLCK	Cinasa de la cadena ligera de miosina
MnSOD	Superóxido dismutasa de manganeso
MMP	Metaloproteinasa de matriz
mRNA	RNA mensajero
MRTF	Factor de transcripción relacionado con miocardina

MT1A	Metalotioneína 1
MVB	Cuerpos multivesiculares
MyD88	Molécula adaptadora del factor de diferenciación mieloide
MYLK	Gen de la cinasa de la cadena ligera de miosina
ncRNA	RNA no codificante
NF-AT	Factor nuclear de las células T activadas
NF-κB	Factor de transcripción nuclear kappa B
NLRP3	Receptor tipo NOD que contiene un dominio de Pirina 3
NLR	Receptores similares a NOD
NOS2	Óxido nítrico sintasa
NPC1	Transportador de colesterol Niemann-Pick C
NRF2	Factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide 2
NR1H3	Gen del receptor nuclear subfamilia 1 grupo H miembro 3
NUP62	Glicoproteína del poro nuclear p62
ox-LDL	Lipoproteínas de baja densidad oxidadas
PABP	Proteína de unión a la cola de poli-A
PACT	Proteína activadora de la proteína cinasa R
PAMP	Patrones moleculares asociados a patógenos
PARN	Ribonucleasa específica de poli-A
PDCD4	Proteína de muerte celular programada 4
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PDGF-BB	Factor de crecimiento derivado de plaquetas BB
PIP₃	Fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato
PM	Membrana plasmática
PODXL	Podocalixina
PPARγ	Receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas
PPARGC1A	Gen del coactivador 1 α de PPAR γ
PRR	Receptores de reconocimiento de patrones
PTEN	Gen homólogo de fosfatasa y tensina
PVAT	Tejido adiposo perivascular
P21	Inhibidor de cinasa dependiente de ciclina 1A

RAGE	Receptor para productos finales de glucosilación avanzada
RANGEF	Factor de intercambio de nucleótidos de guanina RAN
RAP1	Proteína relacionada con RAS1
RECK	Gen de la proteína rica en cisteína inductora de reversión con motivos kazales
RGS16	Regulador de la señalización de la proteína G 16
RISC	Complejo de silenciamiento inducido por RNA
RLR	Receptores tipo RIG-1
RNA	Ácido ribonucleico
ROR1	Receptor huérfano de tipo cinasa de tirosina 1
ROR2	Receptor huérfano de tipo cinasa de tirosina 2
ROS	Especies reactivas de oxígeno
RUNX2	Factor de transcripción 2 de la familia RUNX (genes relacionados con Runt)
S1P	Esfingosina-1-fosfato
S1PR2	Receptor 2 de esfingosina-1-fosfato
SCA	Síndrome coronario agudo
shRNA	RNA en horquilla pequeño
SIRT1	Sirtuina 1
SIRT6	Sirtuina 6
SMAD1	Proteína de la familia SMAD (acrónimo de la fusión de los genes <i>Sma</i> de <i>Caenorhabditis elegans</i> y <i>Mad</i> de <i>Drosophila</i> [Mothers against decapentaplegic]) miembro 1
snoRNA	RNA pequeño nucleolar
SOCS1	Supresor de la señalización de citocinas 1
SOCS3	Supresor de la señalización de citocinas 3
SOX9	Miembro 9 de los factores de transcripción con caja SRY
SP7	Osterix
SPRY1	Proteína <i>sprouty</i> homóloga 1
SREBP	Proteína de unión al elemento de respuesta a esteroides
SRF	Factor de respuesta al suero

STAT	Traductor de señales y activador de la transcripción
TAGLN	Gen de la transgelina
TBK1	Cinasa 1 de unión a TANK
TDG	DNA glucosilasa de Timina
TERT	Transcriptasa reversa de la Telomerasa
TET2	TET (<i>translocación diez-once</i>) dioxigenasa de metilcitosina 2
TGF-β1	Factor de crecimiento transformante beta 1
TLR	Receptores tipo toll
TNAP	Fosfatasa alcalina no específica de tejido
TNF-α	Factor de necrosis tumoral α
TNRC6A	Repetición de trinucleótidos que contiene el adaptador 6 ^a
TP16	Inhibidor de cinasa dependiente de ciclina 2A
TP53	Proteína tumoral P53
TP300	Proteína de unión a E1A p300
TRAF	Factor asociado al receptor del factor de necrosis tumoral
TRAM	Molécula adaptadora relacionada con TRIF (adaptador que contiene el dominio Toll/receptor de IL1)
TRBP	Proteína de unión al elemento de respuesta a la transactivación
TRIF	Adaptador que contiene el dominio Toll/receptor de IL1
TRIM14	Proteína que contiene motivos tripartita 14
tRNA	RNA de transferencia
VCAM-1	Molécula de adhesión de células vasculares 1
VLDLR	Receptor de lipoproteínas de muy baja densidad
VSMC	Células del musculo liso vascular
WNT5A	Proteína miembro de la familia Wnt 5A
XIAP	Proteína del inhibidor de la apoptosis ligada al cromosoma X
XRN1P	Exorribonucleasa 5'-3' citoplasmática 1

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación de diferentes tipos de vesículas extracelulares	31
Tabla 2. Posibles microRNA circulantes que pueden ser utilizados como biomarcadores de aterosclerosis y enfermedades relacionadas	75
Tabla 3. microRNA que se encuentran aumentados durante la aterosclerosis	78
Tabla 4. microRNA que se encuentran disminuidos durante la aterosclerosis	82

Índice de figuras

Figura 1. Progresión de la lesión aterosclerótica	20
Figura 2. Señalización de los receptores tipo Toll 2 y 4 (TLR2 y TLR4)	23
Figura 3. Participación del inflamasoma NLRP3 en la aterosclerosis	24
Figura 4. Participación del sistema inmunológico en la aterosclerosis	26
Figura 5. Biogénesis de las vesículas extracelulares	29
Figura 6. Proceso de biogénesis canónica de los microRNA	34
Figura 7. Mecanismo de silenciamiento génico mediado por miRISC	40
Figura 8. Participación de las vesículas extracelulares en la aterosclerosis	43
Figura 9. Participación de las células sintéticas de músculo liso vascular en la calcificación de las placas ateroscleróticas	45
Figura 10. Participación de los microRNA en la disfunción endotelial y la senescencia celular en la aterosclerosis	70
Figura 11. Participación de los microRNA en la proliferación y diferenciación de células de músculo liso vascular en la aterosclerosis	71
Figura 12. Participación de los microRNA en la formación de las células espumosas en la aterosclerosis	72
Figura 13. Mecanismo de eflujo del colesterol	91

Resumen

La aterosclerosis es una enfermedad asintomática, inflamatoria y crónica, que se caracteriza por la formación de placas en las arterias, debido a la acumulación excesiva de lípidos en la íntima, lo que conduce a la inflamación, al reclutamiento de macrófagos, la formación de células espumosas, y la calcificación. La importancia de esta enfermedad es que es la antesala de una de las principales causas de muerte tanto en México como en el mundo, que son sus complicaciones agudas como el infarto de miocardio y los accidentes cerebrovasculares. Durante la última década se ha destacado la participación de las vesículas extracelulares y los microRNA en el desarrollo de la aterosclerosis. Las vesículas extracelulares son estructuras anucleares heterogéneas limitadas por una bicapa de fosfolípidos con un tamaño que oscila de 20 nm a 2 μ m y que son producidas por la secreción paracrina de diferentes tipos de células. Las vesículas extracelulares transportan una carga compleja de moléculas bioactivas, incluidas proteínas, lípidos y material genético, que depende del microambiente, de la célula de origen y de su mecanismo de formación, por lo que están involucradas en la comunicación célula-célula. Entre las moléculas contenidas en las vesículas extracelulares se encuentran los microRNA, RNA pequeños no codificantes que juegan un papel esencial en la regulación de la expresión génica a nivel postranscripcional. La evidencia emergente sugiere que los niveles elevados de vesículas extracelulares y microRNA en los fluidos corporales, como parte de las respuestas celulares a los factores aterogénicos, están asociados con el desarrollo de aterosclerosis, participando en varios procesos, como la inflamación, la formación de células espumosas, la senescencia celular, la apoptosis celular, y la calcificación, lo que contribuye al inicio y la progresión de las enfermedades aterotrombóticas. Actualmente existe el interés de investigar a las vesículas extracelulares y los microRNA como posibles biomarcadores de la progresión de las placas ateroscleróticas, o como blancos terapéuticos. Este Trabajo Monográfico de Actualización se centra en el papel de las vesículas extracelulares y los microRNA en el desarrollo de la aterosclerosis, y los procesos que participan en esta enfermedad, así como su posible papel como biomarcadores o blancos terapéuticos.

1. Justificación

Las principales causas de muerte en el mundo durante 2015 fueron las provocadas por enfermedades ateroscleróticas y sus complicaciones agudas como el infarto al miocardio y los accidentes cerebrovasculares [1]. En México, de acuerdo al INEGI, durante el 2020, 92.4% de las defunciones se debieron a enfermedades y problemas relacionados con la salud, de las cuales la principal causa de muerte, tanto para hombres como para mujeres, fueron las enfermedades del corazón, que representaron un 20.7%; de éstas, las enfermedades isquémicas representaron el 76.3% [2]. Sin embargo, la aterosclerosis es una enfermedad asintomática, incluso para aquellas personas con enfermedad avanzada, por lo que el primer indicador suele ser un ataque cardíaco, que puede resultar fatal.

La importancia de la aterosclerosis radica en que es la antesala de una de las principales causas de muerte en México y en el mundo, la enfermedad arterial coronaria, por lo que el conocimiento de cómo se desarrolla la enfermedad y los factores que influyen en ella, ayudan en la investigación de nuevas terapias, así mismo, en la búsqueda de diferentes moléculas que puedan ser utilizadas como biomarcadores para una detección temprana, para así evitar sus complicaciones agudas.

Actualmente, existe un interés particular en el estudio de las vesículas extracelulares, ya que estas se encargan de la comunicación intercelular, por lo que regulan diversos procesos biológicos, como los inflamatorios que están relacionados con el desarrollo de la aterosclerosis. Uno de los componentes más importantes de las vesículas extracelulares son los microRNA, que son moléculas implicadas en la regulación del metabolismo de las lipoproteínas, en la remodelación vascular y en la inflamación, por lo que conocer más sobre ambos elementos permitirá comprender mejor cómo se llevan a cabo los procesos ateroscleróticos.

2. Alcance

El presente Trabajo Monográfico de Actualización es una investigación documental con base en la revisión de artículos de revistas especializadas en el proceso de cómo se desarrolla la aterosclerosis y su relación con las vesículas extracelulares y los microRNA. Lo anterior permitirá establecer una base documental de la participación de los microRNA en el desarrollo y progresión de esta enfermedad, que podrá emplearse para futuras aplicaciones en la búsqueda de biomarcadores y nuevos tratamientos.

3. Objetivos

Objetivo general:

- Realizar una revisión bibliográfica actualizada en relación a la participación de las vesículas extracelulares y los microRNA en el desarrollo de la aterosclerosis.

Objetivos particulares:

- Definir que son: la aterosclerosis, las vesículas extracelulares y los microRNA, así como sus características.
- Describir la relación de las vesículas extracelulares con el desarrollo de la aterosclerosis.
- Conocer la participación de los microRNA en el desarrollo de la aterosclerosis
- Analizar cómo intervienen los microRNA en la calcificación coronaria.
- Mencionar cómo pueden ser utilizadas las vesículas extracelulares y los microRNA como biomarcadores y blancos terapéuticos en la aterosclerosis.

4. Metodología de la investigación

La metodología empleada para realizar el presente trabajo fue en primer lugar la selección y delimitación del tema; después la definición y estructura del trabajo, así como el planteamiento de la justificación, alcance y objetivos. Posteriormente se realizó una investigación exhaustiva en bases de datos como PubMed y ScienceDirect Elsevier, en donde se identificaron diferentes artículos de revistas especializadas sobre la participación de las vesículas extracelulares y microRNA en el desarrollo de la aterosclerosis. Las búsquedas en las plataformas antes mencionadas se hicieron en el idioma inglés. Las palabras clave utilizadas fueron: *atherosclerosis, atherosclerotic plaque, atheroma, extracellular vesicles, extracellular vesicles and atherosclerosis, pathophysiology of atherosclerosis, miRNA, microRNA, mechanisms of miRNA-mediated gene regulation, atherosclerosis and miRNA, miRNA as biomarkers in atherosclerosis, extracellular vesicles as biomarkers in atherosclerosis*. La búsqueda de información se realizó mediante todas las combinaciones posibles. Posteriormente, se realizó un análisis y proceso de selección de la información; los criterios de selección de los artículos se basaron en actualidad (principalmente de los últimos 5 años), y relevancia, es decir, aquellos artículos que aportaron información de calidad al presente trabajo. Una vez determinado esto, se realizó la organización y redacción del Trabajo Monográfico de Actualización.

5. Introducción

5.1 Aterosclerosis

5.1.1 Definición de aterosclerosis

La aterosclerosis es una enfermedad generalizada, inflamatoria y crónica en la circulación arterial. Es resultado del depósito patológico de lípidos (colesterol y triglicéridos) dentro de las paredes de los vasos sanguíneos arteriales, lo que lleva a inflamación, reclutamiento de macrófagos y células espumosas, y calcificación, dichos depósitos se conocen como placas ateroscleróticas [3]. La aterosclerosis se caracteriza por la oclusión progresiva de las arterias debido a la presencia de las placas ateroscleróticas, que pueden llegar a producir insuficiencia arterial crónica o déficit agudo de la circulación por trombosis oclusiva [3,4]. Esta enfermedad ocurre durante toda la vida y está influenciada por diferentes factores como el exceso de grasa en la dieta, el tabaquismo, la diabetes, el estilo de vida sedentario y factores genéticos [4].

5.1.2 Etapas de la aterosclerosis

Las etapas de progreso de la aterosclerosis se pueden clasificar dependiendo del tipo de lesión que exista. La clasificación de este tipo de lesiones se definió inicialmente por Stary en 1995 (clasificación de la *American Heart Association [AHA]*, la Asociación Americana del Corazón), de acuerdo con la morfología histológica que presentaban este tipo de lesiones [5,6]. De acuerdo con la clasificación de la AHA [6], las lesiones de la aterosclerosis se dividen en:

- **Tipo I.** Son lesiones tempranas, con un engrosamiento adaptativo de la íntima, en donde se forman grupos aislados de macrófagos que contienen pequeñas cantidades de lípidos. En la aterosclerosis temprana se pueden observar rayas de grasa y engrosamiento de la íntima que pueden ocurrir en la aorta antes del nacimiento, asociadas con factores de riesgo cardiovascular perinatal en la madre, como hipercolesterolemia, diabetes y tabaquismo [5]. El colesterol asociado a

las lipoproteínas de baja densidad (LDL-C, por sus siglas en inglés) es el factor más importante para la progresión de la lesión [7].

- **Tipo II.** Esta lesión se le conoce con el nombre de estría grasa; contiene células espumosas de macrófagos estratificadas en capas adyacentes. Además, las células del músculo liso de la íntima contienen pequeñas cantidades de lípidos. En niños mayores de 10 años se pueden presentar estas estrías que no alteran de manera importante la elasticidad, la flexibilidad ni la distensibilidad de la pared arterial; sin embargo, su importancia radica en que pueden ser precursoras de las placas ateroscleróticas [3].
- **Tipo III.** Conocida como preateroma. Contiene gotas y partículas de lípidos extracelulares microscópicamente visibles en la medida en que se forman acumulaciones de este material entre las capas de las células del músculo liso adaptativo, y existe un engrosamiento de la íntima.
- **Tipo IV.** En esta lesión, ya se ha formado la placa aterosclerótica en donde existe una acumulación de lípidos extracelulares densa que ocupa una región de la íntima extensa, pero bien definida.
- **Tipo V.** Conocida como fibroateroma, en esta lesión ya se ha formado tejido conectivo fibroso nuevo y prominente, por lo que se pueden presentar 3 tipos de lesión:
 - **Va:** el tejido fibroso nuevo es parte de una lesión con núcleo lipídico
 - **Vb:** el núcleo lipídico y otras partes de la lesión están calcificadas
 - **Vc:** No hay un núcleo lipídico y los lípidos en general son mínimos.
- **Tipo VI.** Son lesiones complicadas en donde se han desarrollado alteraciones de la superficie, hematomas o hemorragias y depósitos trombóticos visibles.

Es importante señalar, que, aunque las lesiones de tipo VI son las que presentan mayores complicaciones, la morbilidad y mortalidad de la aterosclerosis se debe en gran medida a las lesiones de tipo IV y V [5,6].

Posteriormente Virmani realizó una nueva clasificación, en la cual se dividieron en lesiones de la íntima no ateroscleróticas y lesiones ateroscleróticas progresivas, y se definieron las lesiones avanzadas por los términos de: ateroma de capa fibrosa, ateroma de capa fibrosa delgada, erosión y placa fibrocalcificante [5,8]. En la actualidad, se utilizan ambas clasificaciones. De acuerdo con la clasificación de Virmani [8], las lesiones de la aterosclerosis se dividen en:

Lesiones de la íntima no ateroscleróticas:

- **Engrosamiento de la íntima:** Acumulación normal de células del músculo liso en la íntima en ausencia de lípidos o células espumosas de macrófagos [8].
- **Xantoma intimal o "estría grasa":** Acumulación luminal de células espumosas sin un núcleo necrótico o una capa fibrosa. De acuerdo con datos reportados de animales y humanos, estas lesiones suelen remitir [8].

Lesiones ateroscleróticas progresivas:

- **Engrosamiento patológico de la íntima:** las células del músculo liso están en una matriz rica en proteoglicanos con zonas de acumulación de lípidos extracelulares sin necrosis [8].
- **Erosión:** Placa igual a la anterior con trombosis luminal. El trombo mayoritariamente es mural y rara vez oclusivo [8].
- **Ateroma de casquete fibroso:** Núcleo necrótico bien formado con un casquete fibroso suprayacente, sin trombos [8].
- **Ateroma de capa fibrosa fina:** Capa fibrosa fina infiltrada por macrófagos y linfocitos con escasas células del músculo liso y un núcleo necrótico subyacente. Aunque no hay trombos, puede contener hemorragia intraplaca con depósitos de fibrina [8].
- **Rotura de la placa:** Fibroateroma con ruptura de la cubierta; el trombo luminal se comunica con el núcleo necrótico subyacente. El trombo suele ser oclusivo [8].
- **Nódulo calcificado:** Calcificación nodular eruptiva con placa fibrocalcificada subyacente. El trombo generalmente es no oclusivo [8].

- **Placa fibrocalcificada:** Placa rica en colágeno con estenosis significativa que suele contener grandes áreas de calcificación con pocas células inflamatorias; puede haber un núcleo necrótico [8].

Las lesiones tempranas por lo regular no ocasionan eventos adversos, pero conducen al desarrollo de placas que pueden favorecer la formación de núcleos lipídicos necróticos y así formar placas avanzadas, que son la principal causa de estenosis severa y eventos trombóticos agudos [5-8] (Figura 1). Es por ello importante evitar que las lesiones ateroscleróticas menores sigan desarrollándose, para impedir así problemas futuros [5,8].

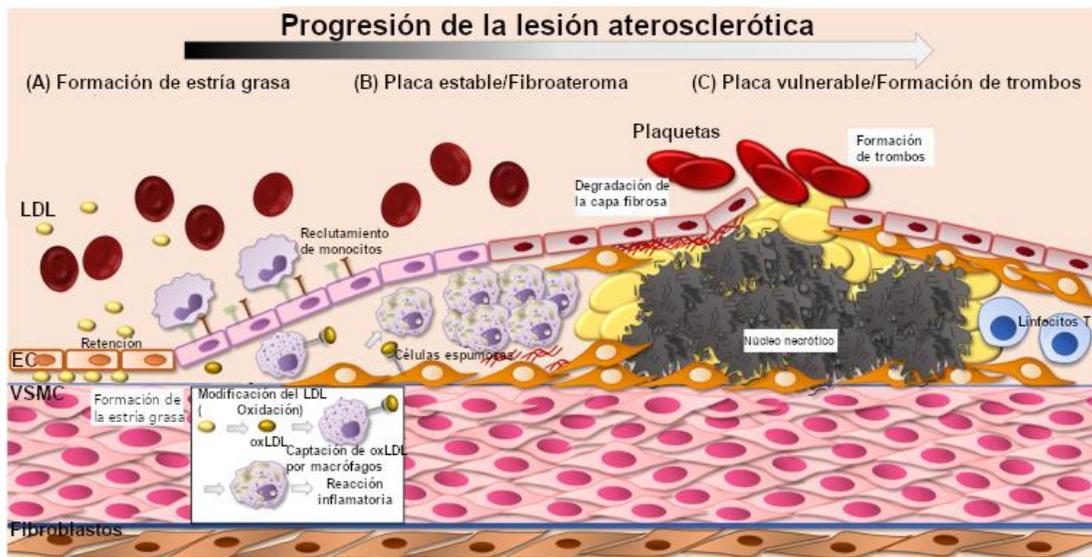


Figura 1. Progresión de la lesión aterosclerótica. (A) La formación de la estría grasa (lesión tipo I a tipo II) comienza con la retención de lipoproteínas en la pared vascular que al alterar el flujo sanguíneo activan la expresión de las moléculas de adhesión de células vasculares 1 (VCAM-1) y de la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) en el endotelio, lo que recluta monocitos a la pared del vaso. Los monocitos se diferencian a macrófagos que absorben lipoproteínas de baja densidad oxidadas (ox-LDL), lo que provoca la formación de células espumosas y la liberación de citocinas proinflamatorias. (B) Después comienza la formación de la placa estable/fibroateroma (lesión tipo III a tipo V) donde existe una densa acumulación de lípidos extracelulares que ocupan una región de la íntima extensa y definida. La placa estable está compuesta por un núcleo lipídico y la acumulación de células necróticas (células espumosas que sufrieron apoptosis y necrosis). Las VSMC (células de músculo liso vascular) sintéticas secretan colágeno, elastina, fibronectina y matriz extracelular que facilitan la formación de la capa fibrosa. (C) La placa vulnerable (lesión tipo VI) es propensa a romperse, lo que trae consigo complicaciones secundarias como la formación de trombos o hematomas. (Figura modificada de Charla E, et. al. [9])

5.1.3 Fisiopatología de la aterosclerosis

Los procesos inflamatorios son un proceso importante para el desarrollo de la aterosclerosis, lo cual ya era reconocido desde el siglo XIX por Virchow [10]; sin embargo, actualmente se tiene una mejor idea de cómo ocurren dichos procesos. En la última década, se han identificado varios factores de riesgo para el desarrollo de la aterosclerosis, asociados con la activación del sistema inmunológico, como la artritis reumatoide, gota, artritis psoriásica y espondilitis anquilosante, así como infecciones por bacterias o virus, como *Chlamydia pneumoniae*, *Porphyromonas gingivalis* y el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) [11].

La inflamación es regulada por el sistema inmunológico innato, que sirve como la primera línea de defensa contra agentes extraños al organismo; éste incluye diferentes células como son los macrófagos (células inflamatorias más abundantes presentes en las placas ateroscleróticas) y los polimorfonucleares (neutrófilos), además del sistema del complemento [11-15]. Las células del sistema inmunológico innato cuentan con receptores de reconocimiento de patrones (PRR) cuya función es reconocer patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) o patrones moleculares asociados al daño (DAMP) para activar la respuesta inmunológica innata [11-13]; estos se dividen en diferentes tipos: los que están unidos a las membranas de las células, como los receptores tipo Toll (TLR) y los receptores de lectinas tipo C (CLR), y los receptores citoplasmáticos como los receptores similares a NOD (NLR) y los receptores tipo RIG-1 (RLR) [11,12].

Los TLR reconocen estímulos tanto exógenos como endógenos, es decir, pueden reconocer tanto los PAMP como los DAMP, y están localizados en diferentes células como neutrófilos, monocitos, macrófagos, mastocitos, y también en células endoteliales (CE) y del músculo liso [12]. Entre las características de los TLR, podemos encontrar que la mayoría son proteínas transmembranales tipo 1, excepto TLR3, y todos utilizan la molécula adaptadora del factor de diferenciación mieloide 88 (MyD88) para la señalización intracelular y la activación de la transcripción de genes proinflamatorios, aunque TLR4 también puede activarse por otras vías [12].

En general, la aterosclerosis inicia cuando hay disfunción endotelial, que puede ser causada por el estrés hemodinámico o por la dislipidemia, lo que provoca el aumento de la permeabilidad endotelial de las LDL y su acumulación, principalmente en las regiones conocidas como ateropronas [10,13]. Esto activa al factor de transcripción nuclear kappa B (NF- κ B) y provoca que las CE expresen la molécula de adhesión de células vasculares 1 (VCAM-1) y la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), lo que facilita la migración de monocitos hacia la pared del vaso [9]. Las LDL sufren modificaciones como oxidación, agregación y escisión enzimática, formándose compuestos como las ox-LDL, compuesto altamente aterogénico que es detectado por las células del sistema inmune innato, como los macrófagos, a través de TLR2, CD36/TLR4/TLR6 y los receptores Scavenger A (SR-A, receptores "basurero") [11,12]; por lo que posteriormente su función fagocítica es afectada debido a la acumulación intracelular y al flujo defectuoso de las ox-LDL. Estos macrófagos se conocen como células espumosas por la absorción continua de lipoproteínas; estas células quedan atrapadas dentro de la íntima arterial donde sufren apoptosis debido al estrés celular y las respuestas inflamatorias, lo que contribuye a la formación del núcleo necrótico protrombótico [11,14].

Existen macrófagos arteriales que derivan de precursores embrionarios del receptor 1 de quimiocina CX3C (CX3CR1) y de monocitos derivados de la médula ósea, que colonizan el tejido inmediatamente después del nacimiento [11,15]. Aunque estos macrófagos son sostenidos por la proliferación local durante la aterogénesis, existe reclutamiento de fagocitos mononucleares que implica la unión a CE activadas por moléculas de adhesión de leucocitos [11]. Dicho proceso, actualmente se conoce que no únicamente ocurre en las etapas iniciales de la aterosclerosis, sino también cuando la lesión ya está establecida; además, estos monocitos proinflamatorios Ly6C^{High} (CD14⁺⁺CD16⁺) están en lesiones ateroscleróticas, donde favorecen los niveles altos de citocinas proinflamatorias (factor de necrosis tumoral α (TNF- α), interleucina (IL) 6 e IL-1 β), otros mediadores de reclutamiento de macrófagos y especies reactivas de oxígeno (ROS) [11,13].

En placas avanzadas, algunos DAMP y PAMP como los lipopolisacáridos, las proteínas de choque térmico (HSP, ligando endógeno) y proteínas HMGB1 (proteína de la caja 1 del grupo de alta movilidad) que son liberadas por células necróticas, estimulan a los TLR (como TLR2 y TLR4), los SR y a los NLR, lo que ocasiona la activación y proliferación de más macrófagos, por lo que se desencadenan procesos inflamatorios en la placa [11,12,15]. Las LDL modificadas pueden activar a los receptores TLR2 y TLR4, lo que induce la liberación de citocinas, propiciando un ambiente inflamatorio [12] (Figura 2).

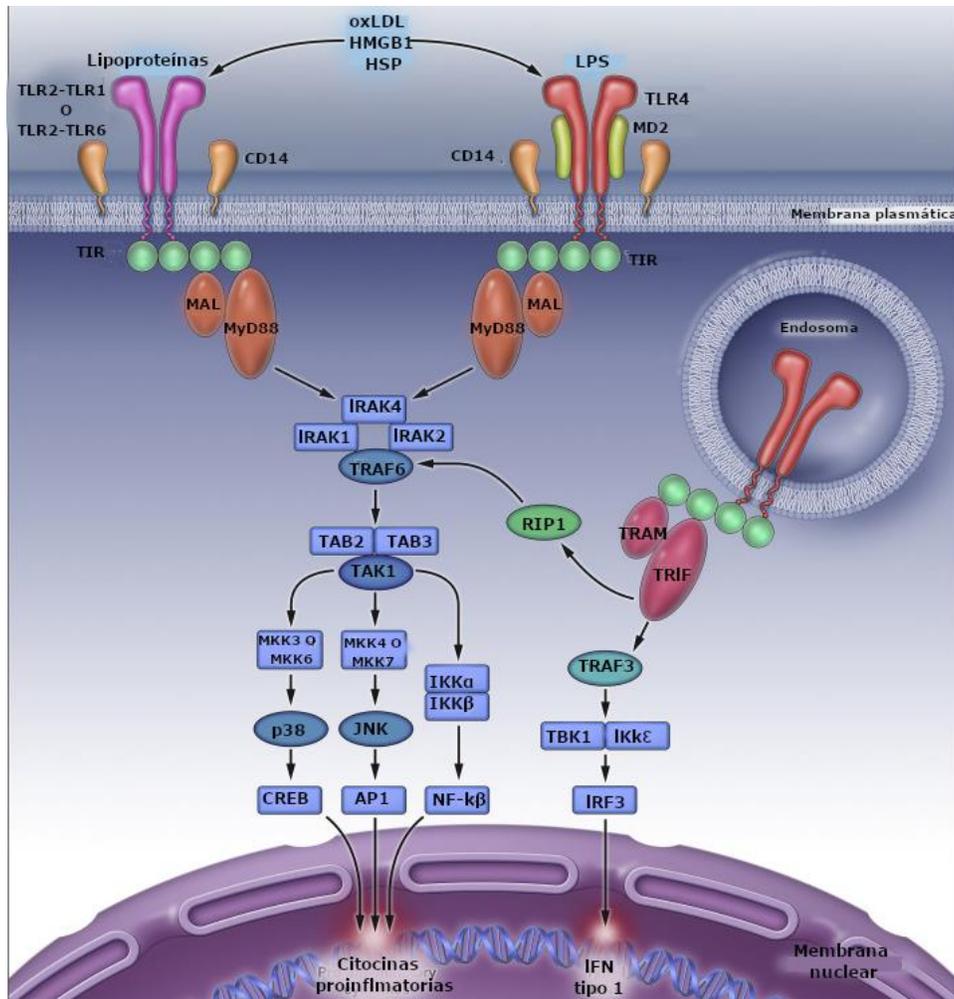


Figura 2. Señalización de los receptores tipo Toll 2 y 4 (TLR2 y TLR4). El TLR2 (asociado con TLR1 o TLR6) y el TLR4 se activan con ligandos que incluyen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), como lipoproteínas para TLR2 y lipopolisacáridos (LPS) para TLR4, y patrones moleculares asociados a daños (DAMP), como LDL oxidada (ox-LDL), proteína de la caja 1 del grupo de alta movilidad (HMGB1) y proteínas de choque térmico (HSP) para ambos receptores. La activación de estos TLR provoca una cascada de señalización que activa la transcripción de citocinas

proinflamatorias e interferones (INF) tipo I. AP1, proteína activadora 1; CREB, proteína de unión a elementos que responde al AMP cíclico; IKK, inhibidor de la cinasa de NF- κ B; JNK, cinasa N-terminal c-jun; MKK, cinasa de la MAP cinasa; NF- κ B, factor nuclear- κ B; TAB, proteína de unión a TAK1; TBK1, cinasa 1 de unión a TANK. (Figura modificada de Hovland A, et. al. [12]).

Los cristales de colesterol y las ox-LDL pueden activar el inflamasoma NLRP3 (receptor tipo NOD que contiene un dominio de pirina 3) provocando la polarización de los macrófagos hacia M1 (proinflamatorios) [14,16,17], cuyos componentes se expresan en CE, en células del músculo liso vascular (VSMC) y en células presentadoras de antígenos profesionales, como macrófagos y células dendríticas [14], desencadenando la secreción de IL-1 β e IL-18, las cuales son citocinas proinflamatorias [10,14,15] (Figura 3).

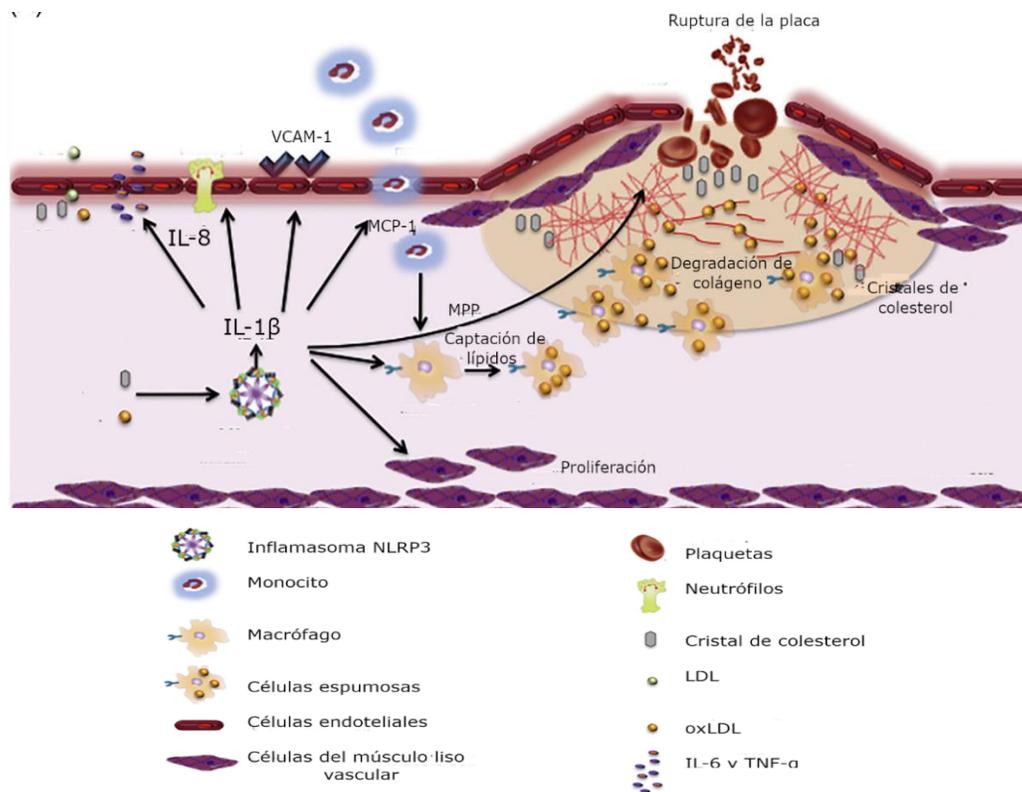


Figura 3. Participación del inflamasoma NLRP3 en la aterosclerosis. La activación del inflamasoma NLRP3 provoca el aumento del ambiente inflamatorio, la atracción e infiltración de neutrófilos y monocitos, la proliferación y migración de las células del músculo liso vascular (VSMC), la formación de células espumosas, la expresión de metaloproteinasas (MMP) y la posterior degradación del colágeno, lo que influye en el aumento de la progresión de las placas ateroscleróticas. MCP-1, proteína quimioatrayente de monocitos 1; IL, interleucina; VCAM-1, molécula de adhesión de células vasculares 1; ox-LDL, lipoproteínas de baja densidad oxidadas (Figura modificada de Miteva K, et. al. [14]).

Asimismo, la inflamación vascular provoca un aumento del NLRP3 [18], el cual es mediado por el NF- κ B y el mRNA del pro-IL-1 β (cebador del NLRP3) [17,18]. La producción de IL-1 β por el NLRP3, induce la expresión de las citocinas proinflamatorias IL-6 y TNF- α [19], de VCAM-1 en las CE, de la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1), que se encarga de atraer a monocitos circulantes y de IL-8, que recluta a neutrófilos, los cuales contribuyen en el desarrollo de la aterosclerosis [13,17,18,20]. Se ha demostrado que la IL-1 β está implicada en la formación de células espumosas [20] al aumentar la susceptibilidad de la deposición de lípidos en los macrófagos, y también está involucrada en la inestabilidad de la placa al incrementar la expresión de las proteínas de matriz (MMP) que degradan el colágeno y en la proliferación y migración de las VSMC [21].

Los macrófagos presentes en las placas ateroscleróticas son muy heterogéneos debido a la composición de las placas, que varía en cada fase del desarrollo de la aterosclerosis [14]. En general, los macrófagos proinflamatorios M1, se encuentran predominantemente en placas inestables y los macrófagos activados alternativamente se encuentran en placas estables [14]. Los macrófagos activados alternativamente (M2a, M2c) promueven la esferocitosis (eliminación de células muertas), la secreción de colágeno y la reparación tisular, procesos que evitan la rotura de la placa [14]. Después del inicio de la aterosclerosis, los lípidos y las células espumosas continúan acumulándose y otros leucocitos, en particular las células T, ingresan a la lesión e interactúan con los macrófagos [14-16], es decir, existe participación de las células Th₁ y Th₂, aunque estas últimas se encuentran presentes en las placas ateroscleróticas en menor cantidad, y todavía no se comprende cómo intervienen en dicho proceso [22].

La liberación de IL-12, IL-18 y la presencia de la ox-LDL activa a las células Th₁ y la subsecuente secreción de interferón gamma (IFN- γ), lo que contribuye a que haya procesos inflamatorios [14,15,16,22] (Figura 4). El IFN- γ es un inductor importante del desarrollo de la aterosclerosis debido a que favorece la infiltración de los monocitos y la activación de macrófagos, interviene en la formación de células espumosas, en lesiones y en la acumulación de lípidos, desestabiliza la placa por deterioro de la función endotelial, y reduce el contenido de colágeno. Los procesos

llevados a cabo por otro tipo de células como las T CD8+ y las Th₁₇ siguen siendo controvertidos. Esto es porque se obtienen resultados diferentes en algunos experimentos, por ejemplo, algunos estudios utilizando modelos de ratón con inmunodeficiencia específica de células T CD8+ citotóxicas han sugerido que no hay ningún efecto de estas células en el desarrollo de la aterosclerosis [22]. Sin embargo, en modelos de transferencia de células o en alteración de vías de regulación inmunológica, se han obtenido resultados de una respuesta ateroprotectora, así como proaterogénica de las células T CD8+ [13,15,22].

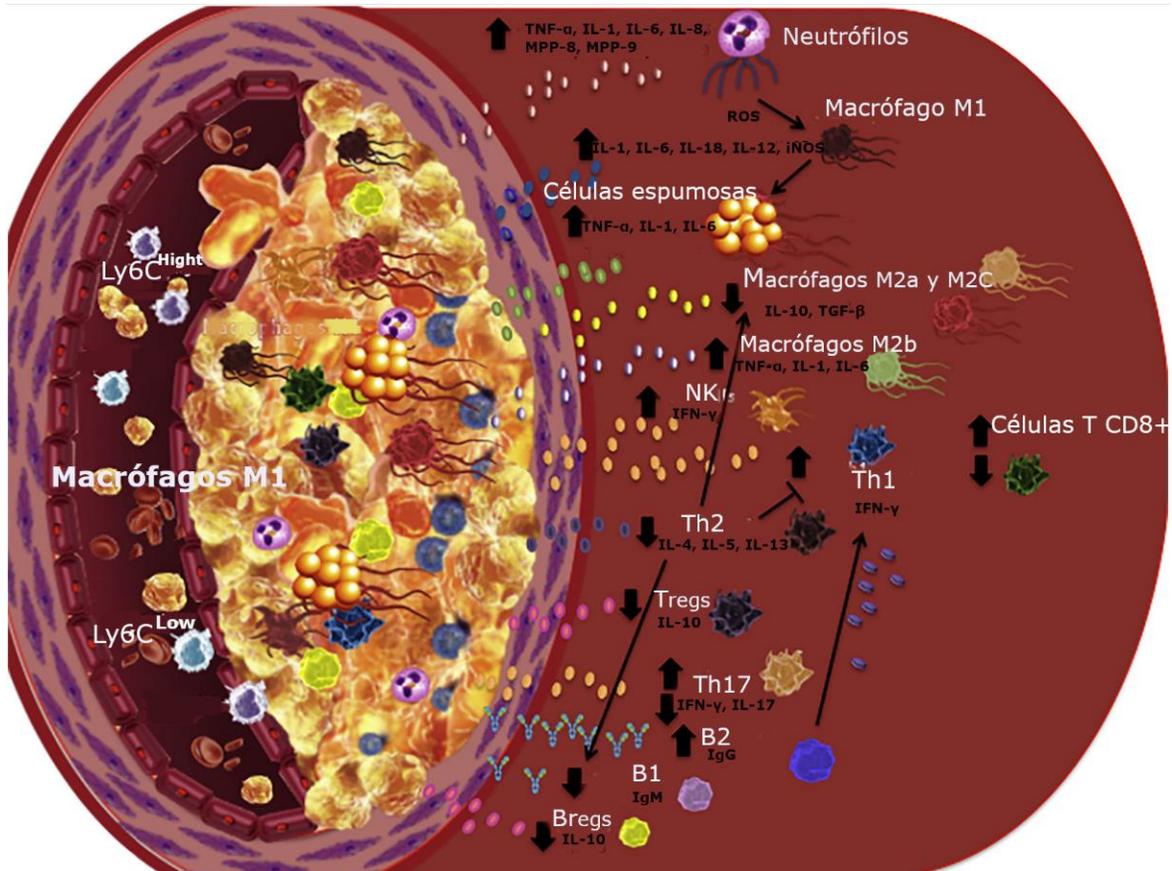


Figura 4. Participación del sistema inmunológico en la aterosclerosis. La disfunción endotelial provocada por los niveles elevados de colesterol en la sangre induce la expresión de moléculas de adhesión, permitiendo la adhesión de las células inmunitarias a células endoteliales y su migración hacia la íntima. Las células del sistema inmunológico como neutrófilos, macrófagos M2b y los linfocitos Th₁ aumentan el ambiente inflamatorio, lo que provoca un aumento en los procesos ateroscleróticos. En cambio, los macrófagos M2a y M2c producen interleucina 10 (IL-10) y factor de crecimiento transformante-β, promoviendo la reparación y curación del tejido. Además, los linfocitos Th₂ liberan IL-4, lo que inhibe a las células Th₁, y las células T_{reg} median efectos antiateroscleróticos. (Figura modificada de Miteva K, et. al [14])

En la respuesta de las células Th₁₇ ocurre algo similar, existe una respuesta proaterogénica debido a que IL-17 puede inducir la producción de citocinas proinflamatorias como IL-6 o de quimiocinas [22]. Por otro lado, IL-17 puede inhibir la producción de IFN- γ , la expresión de moléculas de adhesión o la inducción de colágeno tipo I, procesos que pueden promover la estabilidad de la placa [14,22].

Durante las etapas más avanzadas de la aterosclerosis, se ha observado un agotamiento de las células T reguladoras (T_{reg}), las cuales se encargan de regular el ambiente inflamatorio [22]. Además, se ha demostrado que la expansión de estas células puede reducir la aterosclerosis [22]. Así mismo, se ha observado que el ambiente aterosclerótico modula el fenotipo de las T_{reg}, lo que permite la formación de T_{reg} disfuncionales que provocan una mayor inflamación arterial y aterogénesis [22]. Por otra parte, se ha observado que la principal función de las células B en la aterosclerosis es la producción de anticuerpos; además, se ha demostrado que las células B foliculares y las células B activadoras de la respuesta innata promueven la aterosclerosis [14,16].

Por su parte, cuando las VSMC migran de la túnica media a la región subendotelial, se vuelven altamente proliferativas y tienden a rodear el proceso inflamatorio, participando en la formación de la capa fibrosa que estabiliza la placa, ya que liberan colágeno, elastina, fibronectina y matriz extracelular [13,21,23]. Sin embargo, cuando el núcleo necrótico aumenta su tamaño debido la muerte de los macrófagos y a la esferocitosis alterada (proceso que elimina las células apoptóticas) aumenta el ambiente inflamatorio, el estrés oxidativo y la trombogenicidad, lo que promueven la muerte de las células vecinas, como las VSMC, incrementando así la vulnerabilidad de la placa, que también se ve afectada por la liberación de MMP por parte de macrófagos y VSMC [13,14].

Cuando ocurre la ruptura de la placa aterosclerótica, se desencadena la formación de trombos debido a la activación de las plaquetas [23], lo que puede provocar la oclusión de algún vaso y, por tanto, un infarto de miocardio [23]. Además, las plaquetas contribuyen a la iniciación y la progresión de las lesiones ateroscleróticas, debido a que son activadas por las ox-LDL, a través, de los receptores captadores

SR-A y CD36, lo que aumenta la adhesividad y la formación de trombos [23]. La activación de las plaquetas por ox-LDL forma agregados de plaquetas-monocitos (PMA) con monocitos proinflamatorios y promueve la captación de ox-LDL, la formación de células espumosas y su migración a las placas [23].

5.2 Vesículas extracelulares

5.2.1 Características de las vesículas extracelulares

Las vesículas extracelulares (EV) son estructuras anucleares heterogéneas limitadas por una membrana (bicapa de fosfolípidos) con un tamaño que oscila de 20 nm a 2 μ m, y son producidas por la secreción paracrina de diferentes tipos de células [24-28]. Las EV contienen material biológico derivado de la célula de origen, sirven como un medio de comunicación intercelular para eventos de señalización de corto y largo alcance, y la composición de su contenido depende del tipo de vesícula extracelular del que se trate [26]. Recientemente, la Sociedad Internacional de Vesículas Extracelulares (ISEV) comenzó a estandarizar las prácticas de investigación y las metodologías utilizadas en el aislamiento de EV para evitar confusiones y permitir comparaciones entre estudios, debido al aumento de estos en años recientes y a la gran variedad existente en la nomenclatura utilizada [27].

En el siglo XX, se creía que las células eliminaban desechos celulares que no eran útiles para ellas por medio de vesículas [25], pero actualmente se conoce que en realidad transportan otro tipo de sustancias como colesterol, esfingomielinina, fosfatidilserina, gangliósidos y otros lípidos, además de una gran variedad de proteínas y moléculas de ácido ribonucleico (RNA, por sus siglas en inglés) de diferentes tipos: mensajero (mRNA) y pequeño no codificante (sncRNA, por sus siglas en inglés) dependiendo del tipo de EV, que sirven para procesos de señalización [10].

Los mecanismos moleculares subyacentes de formación, clasificación de contenido y liberación de vesículas, aún están en gran parte inexplorados [25]. El microambiente tiene un impacto en el contenido de las EV, por lo que éstas son heterogéneas al diferir en tamaño, carga y origen celular, además, de tener diversas

funciones biológicas [10]. Las EV están presentes en diversos biofluidos como son el suero, el plasma, la saliva, la orina, el líquido amniótico, las secreciones nasales, el líquido cefalorraquídeo, entre otros, lo que provoca que, al ser aisladas, estén contaminadas con otros componentes como lipoproteínas (LDL o lipoproteínas de alta densidad (HDL)) y restos celulares [10].

5.2.2 Clasificación de las vesículas extracelulares

Las EV forman un grupo heterogéneo y se pueden clasificar de acuerdo con el mecanismo de formación y sus características físicas en: exosomas, microvesículas (MV) y cuerpos apoptóticos [25] (Figura 5). Las más grandes son los cuerpos apoptóticos que tienen un tamaño que oscila de 0.5 a 2 μm [26], una densidad de 1.16 a 1.28 g/mL [26] y presentan una carga positiva en su membrana plasmática lo que provoca que sean permeables [24]. Los cuerpos apoptóticos son liberados como ampollas en las membranas plasmáticas por células que presentan apoptosis. El contenido de este tipo de vesículas son fracciones nucleares, DNA, microRNA, proteínas y orgánulos celulares [10]. Algunos de los marcadores utilizados para detectarlas son la fosfatidilserina, DNA genómico y la caspasa 3 [26].

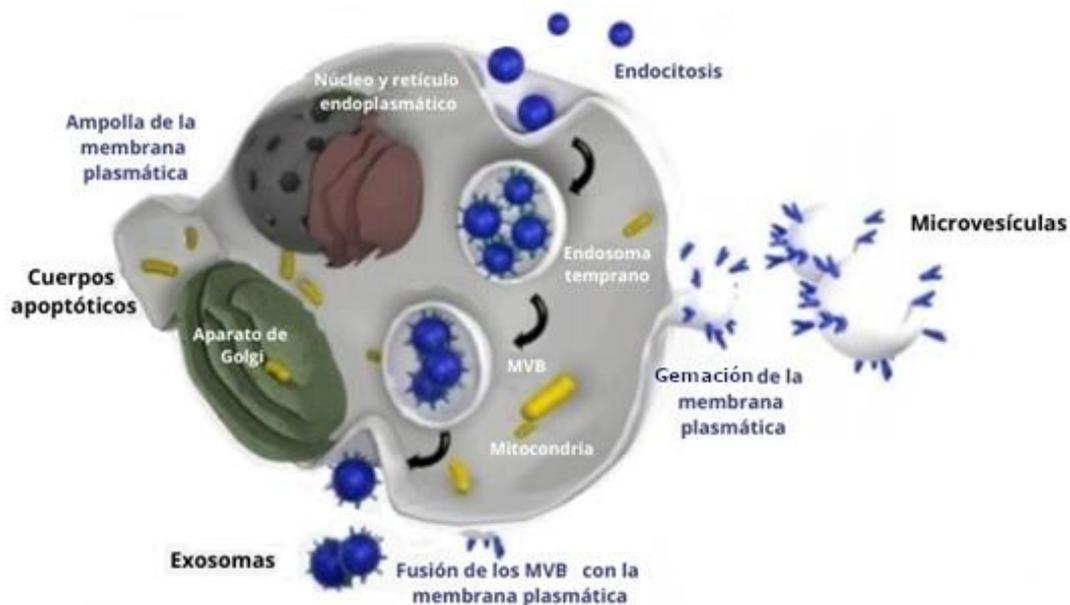


Figura 5. Biogénesis de las vesículas extracelulares. Los exosomas se liberan después de la fusión de los cuerpos multivesiculares (MVB) en la membrana plasmática. Las microvesículas son liberadas por la gemación de la membrana plasmática hacia el exterior. Los cuerpos apoptóticos son las

vesículas más grandes que se forman después de la formación de ampollas en la membrana plasmática. (Figura modificada de Charla E. et. al. [9]).

Las MV también son denominadas micropartículas, ectosomas, vesículas de desprendimiento, micropartículas similares a exosomas y nanopartículas [25]. Tienen un tamaño que varía desde 200 nm a 2 μ m [26], con una densidad de 1.16 a 1.19 g/mL [26] y una carga eléctrica negativa en su membrana, lo que las hace impermeables [24]; éstas se generan a través del desprendimiento de la membrana plasmática hacia el exterior de las células por medio de un proceso conocido como gemación [10].

La biogénesis de las MV comienza con la agrupación de proteínas, lípidos y tetraspaninas en la superficie de la membrana plasmática, cuyo proceso se conoce como nucleación, posteriormente, ocurren cambios en el citoesqueleto y un aumento del Ca^{2+} intracelular para permitir la liberación de las MV [10]. Las MV contienen mRNA, miRNA, otros RNA no codificantes, proteínas citoplasmáticas, proteínas de membrana, orgánulos celulares y diferentes tipos de lípidos [24]. Los marcadores utilizados para detectarlas son integrinas, selectinas y CD40 [26].

Los exosomas son las EV más pequeñas debido a que tienen un tamaño que varía de 20 a 100 nm [26], por lo que pueden ser confundidas con las MV porque existe una superposición en sus perfiles de tamaño; tienen una densidad de 1.13 a 1.18 g/mL [26] y su membrana plasmática tiene carga negativa [27]. Además, cuando se observan bajo un microscopio electrónico de transmisión, muestran una morfología en forma de copa [25]. Los exosomas se liberan por exocitosis después de la fusión de cuerpos multivesiculares (MVB) con la membrana plasmática (PM); esta biogénesis se inicia formando el endosoma de clasificación temprana (ESE, por sus siglas en inglés) mediante la invaginación de la membrana plasmática, donde se encuentran moléculas activas que fueron capturadas por endocitosis, las cuales posteriormente maduran en endosomas de clasificación tardía (LSE, por sus siglas en inglés) [10].

Posteriormente, se forman los MVB al reclutarse en los endosomas a las proteínas de la vía del complejo de clasificación endosomal necesario para el transporte

(ESCRT), los cuales están llenos de vesículas intraluminares (ILV), que son precursores de los exosomas. Los MVB pueden, en primera instancia fusionarse con los lisosomas y degradarse, o bien, fusionarse con la membrana plasmática formando los exosomas y liberar su carga en el espacio extracelular [10]. Una manera para eliminar los niveles excesivos de lípidos es por medio de los exosomas, debido a que su contenido es rico en colesterol, además, contienen glucolípidos, esfingolípidos, glicerofosfolípidos y ceramida, excepto el ácido lisobisfosfatídico [28]. Los marcadores utilizados para detectarlos son tetraspaninas (CD9, CD63, CD81), la proteína de interacción de muerte celular programada 6 (PDCD6IP) y la proteína del gen 101 de susceptibilidad tumoral (TSG101) [26]. A continuación, en la Tabla 1 se encuentra un resumen de las características de las vesículas extracelulares.

Tabla 1. Clasificación de diferentes tipos de vesícula extracelulares (Modificada de Deng W. et. al [28]).

Características	Cuerpos apoptóticos	Microvesículas	Exosomas
Tamaño	0.5–2 μm	100–1000 nm	20–100 nm
Densidad (g/ml)	1.16–1.28	1.16–1.19	1.13–1.18
Origen y mecanismo de formación	Retículo endoplásmico, superficie de la célula, desprendimiento de la membrana de la célula apoptótica y de la célula muerta	Superficie de la célula, desprendimiento de la membrana plasmática hacia el exterior (gemación)	Origen del brote hacia el interior de la membrana endosomal, secretado por la fusión de la MVB con la membrana plasmática
Contenido	Fracción nuclear, DNA, RNA, proteína, miRNA, orgánulos celulares	RNA, miRNA, otros RNA no codificantes, proteínas citoplasmáticas y de membrana, orgánulos celulares, lípidos	RNA, miRNA, otros RNA no codificantes, proteínas citoplasmáticas y de membrana, MHC
Propiedades de la membrana	Membrana permeable (PI positivo)	Membrana impermeable (PI negativo)	Membrana impermeable (PI negativo)
Marcadores	Fosfatidilserina, DNA genómico, caspasa 3	Integrinas, selectinas, CD40	Tetraspaninas (CD9, CD63, CD81), PDCD6IP, TSG101

MVB, cuerpo multivesicular; PDCD6IP, proteína de interacción de muerte celular programada 6; TSG101, proteína del gen 101 de susceptibilidad tumoral, MHC; DNA, ácido desoxirribonucleico; RNA, ácido ribonucleico; miRNA, microRNA; CD, clúster de diferenciación; PI, punto isoeléctrico.

5.3 microRNA

5.3.1 ¿Qué son los microRNA?

Los microRNA son RNA pequeños endógenos conservados, no codificantes, compuestos por aproximadamente 22 nucleótidos (nt) que reconocen y se unen a sitios complementarios ubicados en la región no traducida (UTR) 3' de sus mRNA blanco, regulando su traducción o degradación [29-34]. Sin embargo, también se ha documentado la interacción de los miRNA con los promotores de algunos genes, permitiendo así que estos se expresen [29-31].

Los miRNA exhiben patrones de expresión específicos de tejido, que principalmente están regulados transcripcionalmente [30]. En humanos los genes para los miRNA pueden ser individuales (monocistrónicos), o encontrarse como grupos de genes que producen transcritos policistrónicos que generarán varios miRNA. La mayoría de los miRNA están codificados en intrones (intrónicos) de transcritos codificantes o no codificantes, y muy pocos se encuentran ubicados en exones (exónicos) [30,31]. Además, también pueden generarse miRNA a partir de RNA largos no codificantes (lncRNA) [30].

La regulación de los genes para miRNA ubicados en intrones de genes que codifican proteínas están bajo la misma regulación transcripcional que sus genes huésped, es decir, comparten el mismo promotor con el gen huésped [29,30]. Sin embargo, se ha observado que los genes de miRNA a menudo tienen múltiples sitios de inicio de la transcripción y los promotores de miRNA intrónicos a veces son distintos de los promotores de sus genes huésped [30]. Cabe aclarar que aún no se han mapeado las ubicaciones precisas de la mayoría de los promotores de los genes de miRNA [30].

En la actualidad, existen varios estudios que demuestran que, aunque exista una complementariedad parcial entre miRNA-mRNA, esto puede disminuir significativamente la abundancia de los mRNA blanco [30-32]. Cabe resaltar que más de 60% de los genes humanos que codifican proteínas contienen al menos un sitio de unión a miRNA conservado y, teniendo en cuenta que también existen

numerosos sitios no conservados, la mayoría de los genes que codifican proteínas pueden estar bajo el control de diversos miRNA [30,31].

La familia de genes de los miRNA es de las familias más abundantes en animales, plantas y virus [30]. En una familia de miRNA existen miRNA con secuencias idénticas en los nucleótidos 2-8 del miRNA maduro (contando desde el extremo 5'), pero que provienen de múltiples *loci* [30-32]. Cabe resaltar que en humanos, de acuerdo con la base de datos de miRNA (miRBase), se han catalogado aproximadamente 1917 precursores de horquilla y 2654 secuencias maduras de miRNA hasta la fecha, aunque muchas de sus funciones y mRNA blanco aún no se conocen [33]. Además, existen genes que codifican miRNA hermanos, que generalmente tienen las mismas funciones actuando sobre los mismos mRNA blanco, pero en algunos casos se han sugerido funciones distintas [33]. Los miRNA maduros de estos genes se indican con sufijos de letras, por ejemplo: miR-125a y miR-125b [30]. Así mismo, cabe resaltar que cada *locus* puede producir dos miRNA maduros: uno a partir de la cadena 5' (se agrega el sufijo 5p) y otro a partir de la cadena 3' (se agrega el sufijo 3p) del precursor, por ejemplo, miR-125a-5p y miR-125a-3p, aunque la cadena denominada como guía suele ser más frecuente que la cadena pasajera [30,31].

5.3.2 Biogénesis de los microRNA

5.3.2.1 Biogénesis canónica

Para la biogénesis canónica de los miRNA (Figura 6), primero se requiere que sean transcritos como miRNA primario (pri-miRNA), lo que es llevado a cabo por la RNA polimerasa II (RNA pol II), junto con factores de transcripción dentro del núcleo celular [30,31,34]. El pri-miRNA contiene una estructura de tallo-bucle que producirá uno o más miRNA maduros (ya que puede contener más de una estructura tallo-bucle) y que tiene una longitud mayor de 1 kb; además, en el extremo 5' se incorpora una 7-metilguanosa (m^7G), y en el extremo 3' esta poliadenilado, como ocurre en la mayoría de los transcritos sintetizados por la RNA pol II [30,31,34,35].

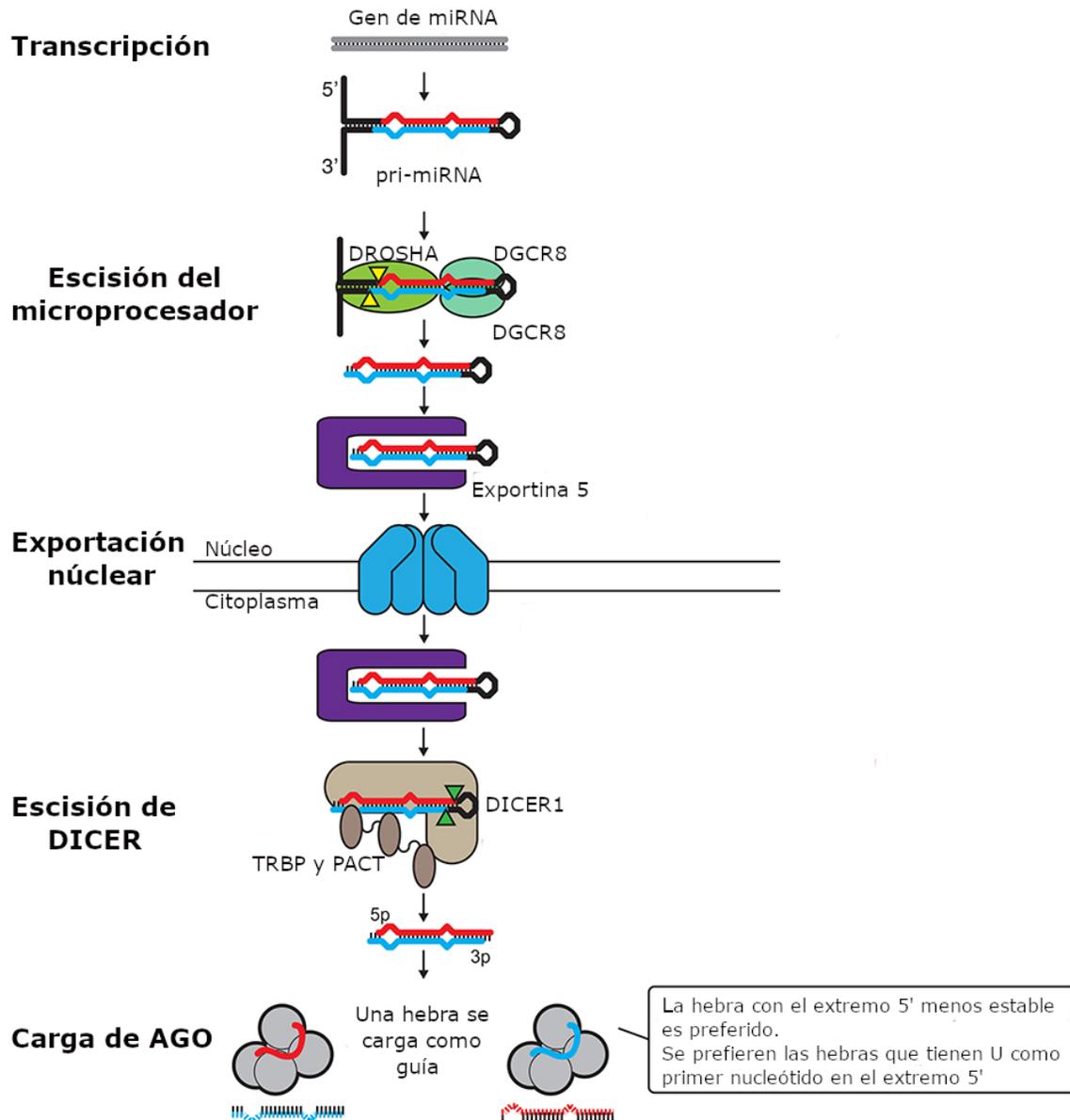


Figura 6. Proceso de biogénesis canónica de los microRNA. Los microRNA (miRNA) comienzan a sintetizarse en el núcleo; los genes de miRNA son transcritos por la RNA polimerasa II en pri-miRNA, el cual es reconocido por DROSHA y DGCR8 (proteína de la región crítica del síndrome de DiGeorge 8), proteínas que juntas forman el complejo del microprocesador que escinde y procesa el pri-miRNA en pre-miRNA. Posteriormente, el pre-miRNA es exportado hacia el citoplasma con la ayuda de la exportina-5 en complejo con RAN-GTP. Una vez en el citoplasma, DICER junto con su complejo, reconocen y escinden al pre-miRNA para formar el RNA dúplex. La actividad de DICER es regulada positivamente por KHSRP (proteína reguladora del empalme de tipo KH) y negativamente por Lin28B (homólogo B de Lin-28). Por último, el miRNA dúplex carga las proteínas argonata que desenrollan el dúplex para producir una hebra guía, para formar el complejo de silenciamiento inducido por RNA (RISC). Cabe resaltar que ambas hebras pueden generar un microRNA maduro. (Figura modificada de Gebert L, et. al. [30]).

Posteriormente, el pri-miRNA es reconocido por la proteína DGCR8 del complejo microprocesador (compuesto por DROSHA y DGCR8), por medio de una secuencia GGAC N6-metiladenilado y otros motivos dentro del pri-miRNA [35], y es escindido por la RNasa nuclear III DROSHA aproximadamente a 11 pares de bases (pb) de la unión basal entre el RNA monocatenario y la estructura del tallo-bucle, y aproximadamente a 22 pb de la unión apical ligada al bucle terminal, formándose el pre-miRNA, el cual es el precursor del microRNA, de aproximadamente 70 nt de largo [30,31].

El pre-miRNA formado es reconocido por la proteína transportadora exportina 5 (EXP5), específicamente por dos nucleótidos salientes en la región 3' y es exportado al citoplasma a través de los poros nucleares [30]. La EXP5 solo funciona en presencia de la proteína nuclear de unión a GTP, RAN-GTP, que necesita a RANGEF (factor de intercambio de nucleótidos de guanina RAN) para generar el gradiente RANGTP-RANGDP, y así, dirigir el transporte [30,31]. Cabe aclarar que RAN existe en dos estados de acuerdo con su ubicación, que son RAN-GTP en el núcleo y RAN-GDP en el citoplasma. De esta manera, una vez que llegan al citoplasma, RAN-GTP es hidrolizado, formándose RAN-GDP, lo que da como resultado la liberación del pre-miRNA [30,31].

En el citoplasma, el pre-miRNA es reconocido por la endoribonucleasa (RNasa III; enzima DICER1), por el dominio N-terminal helicasa PAZ (PIWI/AGO/ ZWILLE), que interactúa con el extremo 5' y 3' saliente de 2 nucleótidos de los pre-miRNA [30,31]. Posteriormente, los dominios de unión de doble hebra y los dominios de RNasa III en tándem de DICER1 se unen con la región del tallo-bucle en el pre-miRNA para escindir en una ubicación fija, contando 21-25 nt de la región terminal 5' [30,31,34]. Aunque para escindir correctamente al pre-miRNA, DICER1 forma un complejo con la proteína de unión al elemento de respuesta a la transactivación (TRBP) y la proteína activadora de la proteína cinasa R (PACT) [30,31,34]. El procesamiento por DICER1 implica la eliminación de los bucles terminales, lo que da como resultado un dúplex de miRNA maduro con otro saliente típico de 2 nucleótidos en 3' [35]. El dúplex de miRNA de ~ 22 nt generado por DICER1 se fosforila en el extremo 5' y se forma un saliente 3', para posteriormente formar el complejo de

silenciamiento inducido por RNA (RISC). El montaje de RISC consta de dos pasos [30,31]:

1. La carga del dúplex de miRNA por las proteínas Argonauta (AGO) para formar el pre-RISC. En los humanos las 4 proteínas AGO (AGO 1-4) están implicadas en la carga.
2. El desenrollamiento del dúplex para seleccionar la hebra guía del miRNA.

La carga de RISC requiere de un complejo chaperón de choque térmico 70 (HSC70)-proteína de choque térmico 90 (HSP90) que utiliza energía en forma de ATP para mediar con fuerza los cambios conformacionales en las proteínas AGO, para que el dúplex de miRNA pueda unirse a ellas [30,31]. Posteriormente, ocurre el desenrollamiento del dúplex de miRNA (proceso independiente de ATP) dentro de las proteínas AGO [30,31]. Para los dúplex altamente complementarios, la hebra pasajera es cortada por AGO2 y después de procesar el N-terminal, el dominio PAZ de AGO2 presenta el extremo 5' de la cadena pasajera al dominio PIWI (actividad de RNAasa). Una vez separado, se forma el miRNA maduro, el cual es de cadena sencilla [30,31].

La hebra guía se elige de acuerdo con la estabilidad termodinámica relativa de los dos extremos del dúplex, durante la carga de AGO [30,31], por lo que la hebra con una terminación relativamente inestable en el lado 5', suele seleccionarse como hebra guía [30,31]. Además, las proteínas AGO seleccionan las cadenas guía con un uracilo (U) en la posición nucleotídica 1 [30,31].

En algunos estudios se ha observado que la hebra pasajera liberada se degrada rápidamente, lo que da lugar a un sesgo hacia la hebra guía en el conjunto de miRNA maduros [30,33,34]; la selección de la hebra no es completamente estricta, por lo que la hebra no favorecida también puede ser seleccionada con una frecuencia variable dependiendo del tejido, etapa de desarrollo, estado patológico o la especie [30,34].

5.3.2.2 Biogénesis no canónica

Existen varios mecanismos alternativos que pueden generar miRNA o pequeños RNA similares a los miRNA, que son independientes de DROSHA y/o independientes de DICER1 [34].

miRtron: los miRtrones son miRNA que se producen a partir de un intrón de un gen que codifica una proteína por la maquinaria de empalme de pre-mRNA que es independiente de DROSHA [34]. Es decir, durante la producción de miRtron, se omite el paso de procesamiento mediado por DROSHA y en su lugar, se genera a partir de un intrón un pequeño precursor de RNA, a través del empalme del mRNA [34]. Los factores de empalme se unen a los sitios de empalme 5' y 3' presentes en los extremos del intrón de horquilla corta y los escinden de los exones adyacentes, formando así una estructura conocida como *lariat* [34,35]. Posteriormente, el *lariat* se desdobra y se repliega en una estructura de bucle corto que se asemeja a un pre-miRNA por medio de la enzima desramificadora del lariat 1, DBR1 [35]. Este pre-miRNA ingresa a la vía de biogénesis canónica en la etapa de exportación, en donde es procesado por DICER1 en el citoplasma [34,35]. Algunos miRtrones tienen secuencias extra en los extremos 5' o 3' y necesitan ser recortados por exonucleasas [34].

miRNA dependientes de DROSHA e independientes de DICER1: algunos miRNA son procesados por DROSHA, pero no por DICER1 [34]. Por ejemplo, en la biogénesis de miR-451a, el pri-miR-451a es escindido por DROSHA, lo que genera una horquilla corta con un tallo de ~18 pb, que es demasiado corto para ser procesado por DICER [34]. Por lo tanto, el pre-miR-451a se carga directamente en AGO2, y se corta en medio de su cadena 3', lo que produce un intermediario de 30 nucleótidos de longitud [34]. Posteriormente, la ribonucleasa específica de poli(A)(PARN) recorta el extremo 3' de esta especie para generar el miR-451 maduro, que tiene una longitud de ~23 nucleótidos [34].

RNA pequeños similares a miRNA de otros RNA no codificantes: algunos miRNA pueden originarse a partir de otros RNA no codificantes, como: pequeños

RNA nucleolares (snoRNA), RNA de transferencia (tRNA), lncRNA y RNA en horquilla corta (shRNA) [34]. Estos RNA no codificantes se cargan en el RISC y actúan como miRNA canónicos y probablemente surgen de una estructura secundaria alternativa en forma de horquilla pre-miRNA, que DICER1 procesa para formar una estructura secundaria corta, que posteriormente se carga en el RISC [34].

RNA interferentes pequeños endógenos (endo-siRNA): algunos endo-siRNA funcionan como miRNA canónicos cuando se unen a AGO2, se cargan en el RISC y reprimen la traducción [34]. Los siguientes mecanismos pueden producir endo-siRNA [34]:

- 1) transcripción de repeticiones invertidas que producen un endo-siRNA derivado de una horquilla que DICER1 procesa en un dúplex de RNA;
- 2) transcripción de fragmentos cortos de ambas cadenas de DNA de un *locus* genómico dando un endo-siRNA derivado en *cis* que forma un dúplex de RNA bicatenario; y
- 3) transcripción de dos *loci* genómicos diferentes que producen fragmentos de RNA que se hibridan para ensamblarse en un dúplex de RNA bicatenario de endo-siRNA derivado en *trans*.

5.3.3 Mecanismos del silenciamiento génico mediado por microRNA

El complejo miRISC media los mecanismos de silenciamiento de genes, ya sea por degradación del mRNA blanco o por represión traduccional. La interacción de los miRNA con el mRNA blanco se produce por el apareamiento perfecto o imperfecto de las bases de la región 5' proximal del miRNA con la región UTR 3' del mRNA blanco [30,31]. El dominio de reconocimiento del blanco (secuencia semilla del miRNA) situado en el extremo 5' abarca desde la posición nucleotídica 2 hasta la 7 [30]. Los nucleótidos posteriores del miRNA, en particular el nucleótido 8 y, de manera menos importante, los nucleótidos 13-16 (región suplementaria), también contribuyen al emparejamiento de bases con los blancos [30]. Los sitios objetivo

más fuertes son los que complementan a los nucleótidos 2-8 del miRNA y tienen una adenina opuesta al nucleótido 1 (t1A) del miRNA, el cual es reconocido por un dominio de unión dentro de AGO [30].

La especificidad del miRISC depende de la interacción con secuencias adicionales del mRNA blanco denominadas elementos de respuesta de miRNA (MRE) [31]. En humanos, la mayoría de las interacciones miRISC-MRE suelen ser imperfectas [31]. Es importante destacar que un solo mRNA blanco puede ser regulado por uno o varios miRNA, mientras que muchos miRNA tienen impacto en los mRNA que participan en una vía celular común o en vías diferentes [30,31]. Además, aunque un miRNA puede silenciar cientos de genes, el efecto sobre cada gen generalmente es leve [31].

El mecanismo de degradación del mRNA por el miRNA se produce cuando las proteínas AGO del miRISC, como AGO2, se unen con la proteína que presenta repeticiones de glicina-triptófano de 182 kDa (GW182) en el dominio que contiene triptófano con el dominio PIWI [30,31]. La proteína GW182 también es conocida como la proteína del gen 6 A que contiene repeticiones de trinucleótidos (TNRC6A) en humanos, que interactúa con la proteína de unión a poliadenilato (PABPC), lo que promueve la desadenilación del mRNA mediante el reclutamiento de la subunidad 2 del complejo de desadenilación de poli(A)-nucleasa (PAN2)-PAN3 y los complejos CCR4-NOT (complejo de la proteína represora de catabolitos de carbono 4- negativo en TATA-menos) [30,31]. La deadenilación promueve la eliminación del nucleótido modificado de guanina que protege al transcrito de la degradación (cap), promoviendo la degradación del mRNA en la dirección 5' a 3'. [30,31]. Además, miRISC desencapsula aún más los mRNA desadenilados mediante el reclutamiento de la proteína de desencadenamiento catalítico principal 2 (DCP2) y DCP1 [30]. Así, una vez que los mRNA están desadenilados y sin el cap, están expuestos a la degradación por la exoribonucleasa 1 citoplasmática 5'-3' (XRN1p) [30,31] (Figura 7).

El otro mecanismo de silenciamiento de los mRNA por los miRNA es por la inhibición en el inicio de la traducción provocada por la interferencia con la función del factor

de iniciación de la traducción eucariota 4A-I (eIF4A-I) y eIF4A-II [30,31]. Aunque existe un desacuerdo entre el mecanismo de interferencia y la función de eIF4A-I y eIF4A-II, la mayoría de los datos indican que el miRISC induce la disociación de los mRNA objetivo al impedir el reclutamiento de la subunidad ribosómica y el ensamblaje del complejo de inicio de la traducción eIF4F [30,31]. Se cree que ambos modos de silenciamiento génico mediado por miRISC están interconectados, revelándose que la descomposición del mRNA es generalmente responsable de 66-90% del silenciamiento [30,31]. Sin embargo, cabe aclarar que la inhibición de la traducción mediada por miRISC aún no se comprende por completo.

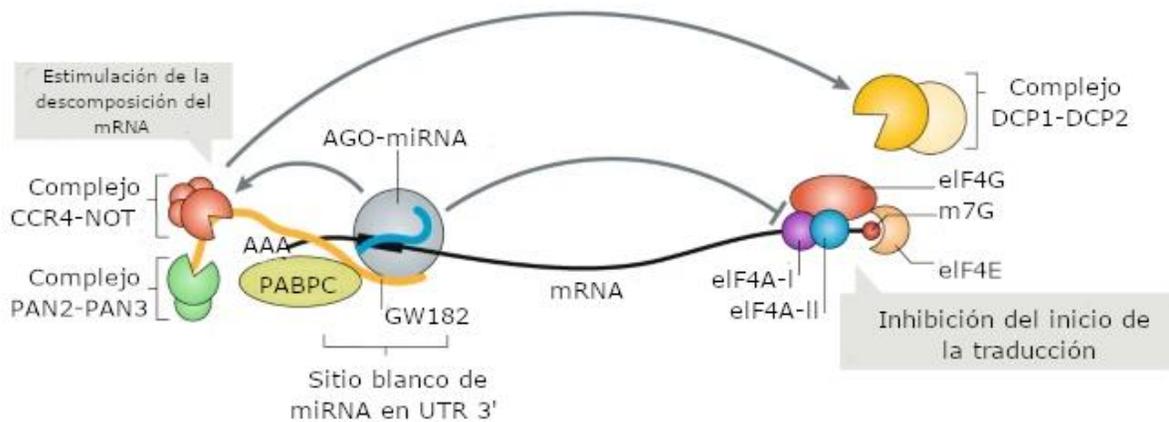


Figura 7. Mecanismo de silenciamiento génico mediado por miRISC, El silenciamiento génico por parte de los miRNA puede llevar a la descomposición o a la inhibición del inicio de la traducción del mRNA blanco (Figura modificada de Gebert L, et. al. [30]).

6. Función de las vesículas extracelulares en los procesos vasculares, en la calcificación coronaria y en la aterosclerosis.

En condiciones normales, las células vasculares liberan EV para ejercer funciones fisiológicas, con el fin de mantener la homeostasis en el organismo que incluye una respuesta inmunitaria integral. En condiciones patológicas, participan en procesos proinflamatorios transfiriendo mediadores que favorecen la inflamación a través de la interacción con CE, monocitos, fibroblastos y VSMC [24], y en procesos de calcificación debido a cambios en la orientación del citoesqueleto o daño durante el transporte y la carga de vesículas [36]. Diferentes estudios han asociado los cambios fisiológicos y patológicos de la aterosclerosis con las vesículas extracelulares, observándose que la concentración de las EV aumenta en pacientes con factores de riesgo cardiovascular, y después de que ocurren este tipo de eventos [24].

Desde hace más de 20 años, se ha descrito que, en las lesiones ateroscleróticas, los macrófagos y monocitos producen altas cantidades de EV [38]; en MV aisladas de pacientes con infarto de miocardio inducen un efecto proinflamatorio *in vitro* al estimular la secreción de IL-8 en monocitos primarios y macrófagos THP-1 [39]. Tanto en pacientes asintomáticos con placas ateroscleróticas como en pacientes con placas avanzadas, los monocitos liberan MV con factor tisular, que están asociadas con un alto riesgo protrombótico [28,40]. En las CE, las EV participan en la regulación de los procesos de remodelación vascular, que requieren una regulación estricta para evitar estados proinflamatorios nocivos para la salud [37]. Cabe destacar que, la mayoría de las EV se generan en células asociadas a la inflamación, y que varios de sus efectos se deben a los miRNA que se encuentran contenidos en ellas [28,39].

Las MV participan en la activación de las CE y monocitos, promueven la unión de los monocitos al endotelio y su migración hacia las placas, inducen la formación de las células espumosas (acumulación de lípidos), y la apoptosis celular a través de los receptores tipo Toll [38,41]. Así mismo, se ha observado que en placas ateroscleróticas humanas existen exosomas [42], que son secretados por las VSMC

y CE presentes al espacio extracelular y también, son secretados por macrófagos, donde desempeñan un papel proinflamatorio, proaterogénico, y participan en el desarrollo del núcleo lipídico y la formación de trombos [42]. Por otra parte, los exosomas secretados por linfocitos T activados pueden promover la aterogénesis dentro de las placas [28], al aumentar la acumulación de lípidos en los macrófagos [38].

Las EV participan durante todos los procesos ateroscleróticos, ya que entre su contenido se encuentran moléculas como ICAM-1, VCAM-1, IL, TNF- α , ROS, entre otras, que se encargan de mediar el ambiente inflamatorio y el reclutamiento celular [37-41], como se puede observar en la Figura 8. Además, se ha descubierto que las plaquetas son una de las fuentes más importantes de EV en la circulación [38]. Los exosomas derivados de plaquetas pueden reducir la expresión de los receptores SR-A y CD36 en los macrófagos, lo que impide la formación de células espumosas y disminuye la agregación plaquetaria [38], por lo que tienen un papel protector en la aterosclerosis [24,28,38]. También, se ha observado que la concentración de MV derivadas de las plaquetas está asociada con la presencia de lesiones aterotrombóticas en las arterias carótidas [43]. Varios subtipos de EV derivadas de las plaquetas son nocivos en el contexto de la EVC (Enfermedad vascular cerebral) y la aterosclerosis [40], por ejemplo, algunas contienen moléculas que activan a las CE vasculares, las cuales posteriormente comienzan a secretar diferentes citocinas proinflamatorias, y que promueven la apoptosis celular [37].

El contenido de las EV secretadas por VSMC es diferente de acuerdo con el fenotipo que presenten, ya sea contráctil o sintético [36]. En las VSMC contráctiles, las MV y cuerpos apoptóticos están compuestas por proteínas citoplasmáticas o relacionadas con orgánulos, mientras que los exosomas contienen proteínas relacionadas con el núcleo [37]. Cuando ocurre una lesión en la íntima o en respuesta a factores de crecimiento, como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), las VSMC contráctiles migran desde la túnica media a la túnica íntima, aumentan la secreción proteica y se vuelven más sensibles a los factores de crecimiento autocrinos y paracrinos, por lo que pierden su capacidad contráctil, se transforman al fenotipo sintético y se vuelven proliferativas, es decir, ocurre una

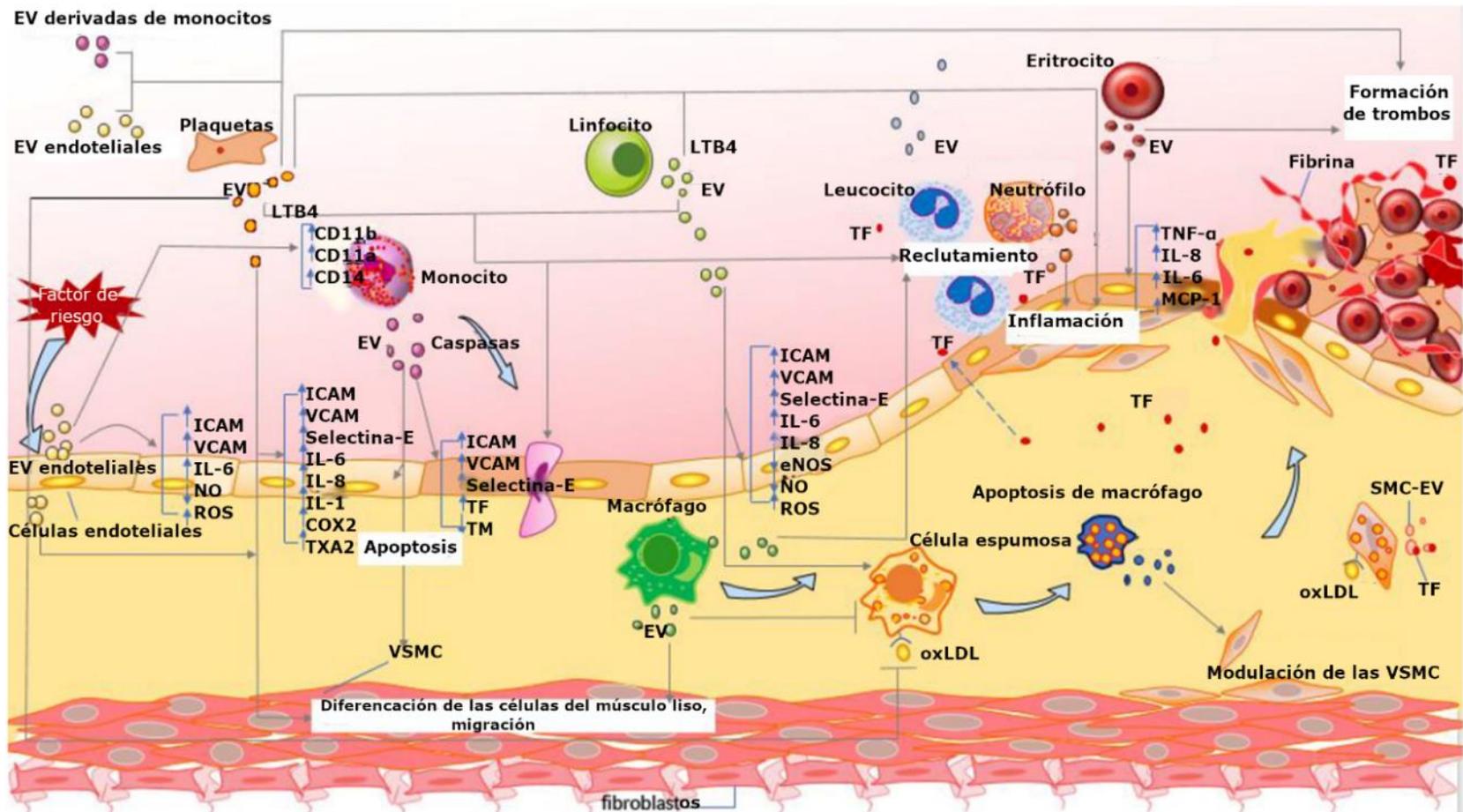


Figura 8. Participación de las vesículas extracelulares en la aterosclerosis. Las vesículas extracelulares (EV) participan en el inicio y desarrollo de la aterosclerosis debido al contenido que liberan, el cual presenta diferentes moléculas que regulan el ambiente inflamatorio y aterosclerótico, como VCAM-1 (molécula de adhesión de células vasculares 1), ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular 1), NO (óxido nítrico), ROS (especies reactivas de oxígeno), selectina E, factor tisular (TF), interleucinas (IL), y diferentes microRNA, que difieren de acuerdo con el tipo de EV y mecanismo de formación. (Figura modificada de Deng W, et. al. [28])

transdiferenciación a células similares a osteoblastos, que son los encargados de la formación de matriz ósea y de promover la calcificación vascular [36,37].

El fenotipo contráctil de las VSMC se caracteriza por una alta expresión de genes específicos como la actina α 2 del músculo liso (*ACTA2*), la calponina 1 (*CNN1*) y la transgelina (*TAGLN*), y su transcripción está regulada por el factor de respuesta al suero (SRF) a través de un motivo de secuencia de la caja CArG (CC(A/T)₆GG), que está presente en los promotores de genes específicos de VSMC [36,37]. La miocardina y la familia de las proteínas del factor de transcripción relacionado con miocardina (MRTF) A y B al interactuar con SRF, provocan la activación de genes contráctiles de VSMC. La miocardina (localizada en el núcleo), está regulada principalmente en el nivel de expresión y, MRTF, que está localizada en el citoplasma puede translocarse al núcleo debido a estímulos como el de la proteína morfogenética ósea 4 (BMP4), por medio de la señalización de Rho, y así unirse a SRF, activando la transcripción de genes contráctiles [37]. Por otro lado, el factor 4 similar a Kruppel (KLF4) y la proteína 1 que contiene el dominio ETS (ELK1), son reguladores negativos de la expresión de genes contráctiles; el primero a través de inhibición de la unión de SRF-miocardina o SRF-MRTF a la caja CArG, por asociación directa con SRF, y alterando la estructura de la cromatina que rodea la caja CArG, suprimiendo así la expresión de miocardina [37], y el segundo, al desplazar la miocardina de SRF, suprimiendo la expresión de genes contráctiles [36].

En el sitio de la lesión, las plaquetas, monocitos y leucocitos secretan una variedad de moléculas proinflamatorias como son IL-6, IL8; PDGF, un factor importante en la diferenciación de las VSMC a un fenotipo sintético, factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- β 1) y la proteína BMP4 que promueven el fenotipo contráctil en las VSMC, y factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) que estimula la inflamación local y la desdiferenciación, proliferación y migración de las VSMC [37], células que liberan exosomas calcificados, que tienden a agregarse y provocar microcalcificaciones en lugares con bajas cantidades de colágeno y una gran calcificación en regiones con grandes cantidades de colágeno [36] (Figura 9).

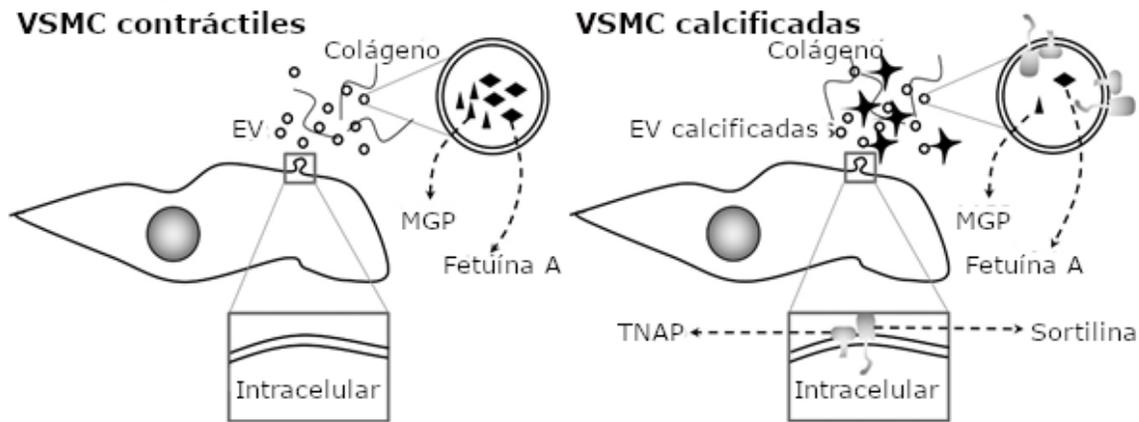


Figura 9. Participación de las células del músculo liso vascular en la calcificación de las placas ateroscleróticas. Las células del músculo liso vascular (VSMC) sintéticas pueden promover la liberación de vesículas extracelulares (EV) y transformar la placa a un estado calcificado. MGP, proteína de matriz GLA; TNAP, la fosfatasa alcalina no específica de tejido. (Figura modificada de Yang W, et. al. [36])

Las VSMC sintéticas deficientes del receptor de colágeno con dominio de discoidina 1 (DDR-1) tienen grandes cantidades de exosomas calcificados que se liberan y se depositan en lugares que contienen colágeno y otros minerales. El contenido de estas MV está compuesto por proteínas que captan Ca^{2+} e inhiben la actividad de la alfa-2-HS-glicoproteína (AHSG, también conocida como fetuina-A) y de la proteína de matriz GLA (MGP), es decir, por inhibidores endógenos de calcificación [36]; además, contienen miRNA disfuncionales que pueden inducir la expresión de marcadores osteogénicos como RUNX2 (factor de transcripción 2 de la familia RUNX (genes relacionados con Runt)), la proteína SMAD1, cuyo nombre es un acrónimo de la fusión de los genes *Sma* de *Caenorhabditis elegans* y *Mad* de *Drosophila* [*Mothers against decapentaplegic*], la fosfatasa alcalina no específica de tejido (TNAP) y factores proinflamatorios [36,44].

El potencial de calcificación de las EV puede aumentar debido al transportador sortilina 1 (SORT1) que se encuentra en los vasos sanguíneos humanos calcificados, y que permite la entrada de TNAP en las EV [36,45]. Cabe resaltar que, la calcificación vascular está relacionada con concentraciones altas de fosfato y calcio [4]. Las concentraciones elevadas de fosfato extracelular promueven la liberación de EV con bajas concentraciones de inhibidores de la calcificación

(fetuina-A y MGP) y altas concentraciones de proteínas procalcificantes (TNAP, SMAD1, RUNX2) [3,46].

Otro mecanismo implicado en la calcificación de las lesiones ateroscleróticas es el producido por los macrófagos proinflamatorios que liberan TNF- α , el cual estimula a las CE para que expresen la proteína morfogenética ósea 2 (BMP2), que son liberadas por MV y que inducen la diferenciación osteogénica y la calcificación de las VSMC [44]. El papel de la calcificación en personas con aterosclerosis es dual, debido a que ocurren microcalcificaciones en la capa fibrosa de las placas promoviendo inestabilidad y ruptura, y también puede ocurrir una gran calcificación debajo de la capa fibrosa, promoviendo estabilidad debido a que el colágeno guía la forma y el tamaño de las calcificaciones [9,36].

7. Papel de los microRNA en la calcificación coronaria y el desarrollo de aterosclerosis

En los últimos años se ha descubierto que en la aterosclerosis, la expresión y función de los miRNA está desregulada en los vasos sanguíneos, por lo que existe una asociación entre esta patología vascular y la modificación de la expresión génica [47,48,49]. Durante la aterosclerosis, los miRNA están implicados en la disfunción de las CE, las senescencia celular, el crecimiento del músculo liso, la transdiferenciación de las VSMC, la inflamación, la apoptosis y la formación de células espumosas [48,49]; las CE pueden ser activadas por estímulos nocivos como las citocinas proinflamatorias, el aumento de lípidos en la sangre y la alteración de las fuerzas de rozamiento en las arterias [49-51]. A continuación, se revisa la participación de algunos miRNA en el desarrollo de la aterosclerosis.

microRNA-1: miR-1 se expresa en gran medida en las células musculares, incluido el músculo liso, el músculo esquelético y el músculo cardíaco, desempeñando un papel regulador crítico en la diferenciación y el crecimiento de las células musculares [52]. Zhu y colaboradores [53] observaron que miR-1 juega un papel importante en la hiperlipidemia en células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVEC) en respuesta a ox-LDL, observándose que la presencia de ox-LDL disminuye la concentración de miR-1 en HUVEC [53].

Además, se observó que miR-1 regula negativamente la traducción del mRNA del gen de la cinasa de la cadena ligera de miosina (*MYLK*) en HUVEC, al unirse en un sitio de unión putativo en el UTR 3' [53]; la inhibición de la traducción de MLCK disminuye la fosforilación de la cadena ligera de miosina, lo que puede desempeñar un papel crucial en contra de la hiperlipidemia [53,54]. Los niveles de MLCK están incrementados en las HUVEC tratadas con ox-LDL [53], lo cual es importante, ya que regulan el estado contráctil del endotelio. Zhu y colaboradores [53] observaron que miR-1 disminuye la activación de ERK/p38, lo que podría indicar que la vía de señalización ERK/p38 MAPK está asociada con la hiperlipidemia, aunque se conoce poco sobre la relación entre MAPK y miR-1 en las HUVEC tratadas con ox-LDL [53].

Sin embargo, existe discrepancia en su participación, ya que, Jiang y colaboradores [55] reportaron que en CE co-cultivadas con hepatocitos esteatóticos humanos, o tratadas con sus EV o miR-1, expresaron significativamente moléculas proinflamatorias como E-selectina, VCAM-1, ICAM-1, IL-1 y MMP-1; además, observaron que al disminuir la concentración de miR-1 (utilizando oligonucleótidos antisentido (antagomiR) de miR-1), disminuía también la inflamación endotelial inducida por las EV.

Por otro lado, miR-1 disminuye la traducción del gen del factor de transcripción de tipo Krüppel 4 (*KLF4*), lo que evita la interacción de KLF4 con TP300 (proteína de unión a E1A p300), un coactivador clave requerido para la actividad transcripcional óptima de muchos factores, incluido NF- κ B y sus genes blanco como *VCAM1* (gen de la molécula de adhesión de células vasculares 1) y *F3* (factor tisular) [52]; por esta vía de señalización miR-1-KLF4-NF- κ B, es por la cual los EV derivados de hepatocitos esteatóticos humanos promueven la inflamación endotelial y la aterogénesis [52].

microRNA-10a: En 2010, Fang y colaboradores [56] observaron en un modelo experimental porcino *in vivo* que miR-10a de CE se expresa en menor cantidad respecto a otros miRNA que son regulados por la presión hemodinámica del flujo sanguíneo en las regiones susceptibles a aterosclerosis. Además, se ha observado en estudios *in vitro* que la inhibición de miR-10a en las CE activa la vía NF- κ B, provocando la expresión de moléculas inflamatorias [56]; esto ocurre porque miR-10a se une directamente al UTR 3' del mRNA del gen del factor de transcripción *GATA6* (proteína de unión a GATA 6), aboliendo así su expresión y, en consecuencia, inhibiendo la producción de la molécula VCAM-1 [57,58].

microRNA-17-5p: El miR-17-5p se encuentra aumentado en leucocitos de sangre periférica de pacientes con aterosclerosis [59], en muestras de arteria carótida de ratones con aterosclerosis [59], y en macrófagos de ratones knock-out *ApoE^{-/-}* alimentados con una dieta alta en colesterol [60,61]. Además, en ratones *ApoE^{-/-}* con aterosclerosis se ha observado que este miRNA está implicado en la formación

de células espumosas y en la expresión de citocinas proinflamatorias, que permiten el desarrollo y progresión de la aterosclerosis [59-62].

miR-17-5p favorece el inicio y la progresión de la aterosclerosis al inhibir la traducción del gen del transportador dependiente de ATP A1 (*ABCA1*) [60]. La importancia del transportador ABCA1 radica en que media el eflujo del colesterol de los macrófagos hacia la apolipoproteína A-I (APOA-I), la cual es pobre en lípidos, como aceptor preferente en el transporte inverso de colesterol [63], proceso que evita la formación de células espumosas debido a la acumulación excesiva de colesterol en los macrófagos [63].

Otro blanco de miR-17-5p es el mRNA del gen del receptor de lipoproteínas de muy baja densidad (*VLDLR*) [61]. El VLDLR es el principal receptor endofítico que reconoce las lipoproteínas que contienen APOE (apolipoproteína E) [62]. Además, se encarga de modular principalmente el metabolismo extrahepático de las lipoproteínas ricas en triglicéridos [62]. Se ha observado que el receptor VLDLR está disminuido en ratones ateroscleróticos y en pacientes con aterosclerosis [61]. Aunque los mecanismos moleculares exactos de la función del VLDLR en el metabolismo de las lipoproteínas no se conocen del todo, la disminución de este receptor, debido a la unión de miR-17-5p en la región 3' UTR del mRNA de este gen, conduce a niveles elevados de colesterol LDL en plasma, acelerando así la progresión de las enfermedades cardiovasculares [61].

microRNA-19b: Se ha reportado que este miRNA se encuentra incrementado en placas ateroscleróticas humanas, en MV provenientes de CE de pacientes con angina inestable y en los aneurismas de aorta abdominal de rata [64]. miR-19b inhibe la traducción del gen *ABCA1* [65], en células espumosas derivadas de macrófagos humanos THP-1, y en macrófagos peritoneales de ratón, provocando un aumento en los niveles de colesterol total, colesterol libre y ésteres de colesterol [65]. En ratones *ApoE*^(-/-), el tratamiento con el precursor de miR-19b aumenta el tamaño de la placa aórtica y el contenido de lípidos, al reducir los niveles plasmáticos de HDL y al aumentar los niveles de LDL, además, de disminuir la traducción de ABCA1 [65].

Cheng y colaboradores [67] encontraron que otro blanco directo de miR-19b es el mRNA del gen supresor de la señalización de citocinas 3 (SOCS3) en las células Caco2 y HT29, lo que exacerba el proceso de la aterosclerosis y la inflamación, ya que SOCS3 es una molécula inhibidora de la traducción de señales de la familia SOCS, que participa principalmente en la vía de señalización de la cinasa activada por Janus (JACK) y el traductor de señales y activador de la transcripción (STAT), JACK/STAT, vía que permite la transcripción de citocinas proinflamatorias sin la necesidad de segundos mensajeros [67]. En ratones *ApoE^{-/-}*, miR-19b derivado de las MV de CE promueve la aterosclerosis al aumentar la inflamación específica en el tejido adiposo perivascular (PVAT), al unirse al mRNA del gen *Socs3*; lo que conlleva a un aumento en el número de macrófagos y en la producción de citocinas proinflamatorias, además, de disminuir el contenido de colágeno en la placa, lo que representa una placa más vulnerable a ruptura [64].

En humanos, se ha observado una expresión aumentada de miR-19b-3p en la íntima, lo que sugiere que sus funciones se ejercen en CE durante la progresión de la aterosclerosis [66]. Además, en CE se ha asociado el aumento aberrante de miR-19b-3p con la disfunción mitocondrial a través de la regulación a la baja de la traducción del gen del coactivador 1 α del receptor activado por el proliferador de peroxisomas γ (*PPARGC1A*) [65], un regulador clave en la biogénesis mitocondrial, ya que miR-19b-3p se une en el 3' UTR del mRNA de dicho coactivador.

El aumento de miR-19b-3p en células endoteliales de la aorta humana (HAEC) reduce significativamente el número de mitocondrias [66], lo que puede conducir a la sobreproducción de ROS y en consecuencia generar estrés oxidativo que contribuye a la patogénesis de la aterosclerosis [66]. También se determinó que el ambiente inflamatorio crónico que se observa durante la aterosclerosis es el responsable de la sobreexpresión de dicho microRNA [66].

En HUVEC tratadas con ox-LDL, se ha observado un aumento significativo de miR-19b y la disminución de la expresión del receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR γ), del cual se ha comprobado que su mRNA es otro blanco de dicho microRNA [68]. Anteriormente PPAR γ , ya se había considerado como un

posible inhibidor del desarrollo de la aterosclerosis [69], y en la actualidad se conoce que la sobreexpresión del gen *PPARG* ejerce un efecto inhibitorio sobre la inflamación aterosclerótica, mediante la degradación de las proteínas NF- κ B/P65 por ubiquitinización [68].

microRNA-21: El microRNA-21 se encuentra altamente expresado en las enfermedades cardiovasculares [80-81], ya que se han reportado niveles altos en suero de pacientes con ictus y con aterosclerosis, en placas ateroscleróticas y en el suero de pacientes con síndrome coronario agudo [70,71]. En HUVEC, miR-21 puede inhibir la apoptosis y aumentar la fosforilación de la óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS), al dirigirse al mRNA del gen homólogo de fosfatasa y tensina (*PTEN*) [72]. PTEN desfosforila el fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP₃), lo que inhibe la activación de la proteína cinasa B (AKT), por lo que AKT ya no puede activar a la eNOS en las CE, disminuyendo la actividad de la enzima. PTEN también antagoniza la vía PI3K (fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato 3-cinasa) /AKT, que participa en la disminución de la apoptosis en varios tipos de células debido a que activa a la proteína AKT, que fosforila a la proteína ubiquitina (también nombrada ubiquitina) ligasa E3 Mdm2, MDM2, la cual se une a TP53 (proteína tumoral P53) y lo ubiquitina, llevándolo a su translocación nuclear y degradación [72]. Además, algunos estudios han informado efectos antiinflamatorios por parte de miR-21 en macrófagos peritoneales de ratones WT C57BL/6, al unirse al mRNA del gen de la proteína de muerte celular programada 4 (*Pdcd4*), lo que bloquea la actividad de NF- κ B disminuyendo la producción de citocinas proinflamatorias [73].

Sin embargo, otros estudios han reportado efectos proinflamatorios por parte de este microRNA [74,75]. En modelos de restenosis, miR-21 indujo la secreción de mediadores proinflamatorios, como IL-1 α , IL-1 β e IL-6 en macrófagos lo que promovió la inflamación vascular [74]. Además, en pacientes con placas coronarias no calcificadas, miR-21 se encuentra aumentado en macrófagos, y se ha demostrado que puede inducir la expresión de MMP-9 en estos, al dirigirse al mRNA del gen de la proteína rica en cisteína inductora de reversión con motivos kazales (*RECK*), cuya proteína es un inhibidor de MMP, lo que provoca la degradación del colágeno en las placas ateroscleróticas, induciendo inestabilidad en la placa [75].

Otro estudio demostró que la expresión de miR-21 está significativamente regulada tanto en las lesiones ateroscleróticas de ratones *ApoE*^(-/-) como en los monocitos circulantes de pacientes con enfermedad coronaria [76]. Además, en ratones deficientes de miR-21 se observó la disminución de la aterogénesis en la aorta, por la disminución de la interacción leucocito-endotelio y la migración, que representan el deterioro del inicio de la aterosclerosis [76].

Así mismo, en macrófagos derivados de medula ósea de ratones se observó que miR-21 puede aumentar la migración y la adhesión a CE al dirigirse al 3' UTR del mRNA del gen de la fosfatasa de doble especificidad 8 (*DUSP8*) [76,77], el cual regula negativamente a MAPK, lo que inhibe la secreción de VCAM-1, MCP-1 y citocinas proinflamatorias [76].

microRNA-22: La expresión de miR-22 está disminuida en pacientes con enfermedad arterial coronaria, en pacientes con enfermedades inflamatorias y en arterias femorales enfermas de humanos [78,79]. Además, miR-22-3p se encuentra disminuido en arterias de pacientes con arteriosclerosis obliterante y en células de músculo liso vascular de arterias humanas (HASMC) estimuladas con el factor de crecimiento derivado de plaquetas BB (PDGF-BB) [80].

Uno de los blancos de miR-22 es el mRNA del gen del dominio de pirina de la familia NLR (receptores tipo NOD (dominio de oligomerización de unión a nucleótidos)) que contiene 3 (*NLRP3*), lo que regula a la baja los niveles de citocinas proinflamatorias, al inhibir la traducción del inflammasoma NLRP3 [81], esto se observó en un modelo de gota en macrófagos humanos THP-1 tratados con acetato de miristrato de forbol *in vitro*, en donde hubo una disminución de miR-22 y, la utilización de un mimético de miR-22 disminuyó la inflamación al dirigirse al mRNA del NLRP3 [81], por lo que es un buen candidato para investigación en modelos de aterosclerosis. Los miméticos o mimetizadores de miRNA son moléculas de RNA de doble cadena artificiales, parecidos a pre-miRNA, que al ser introducidos en las células son reconocidos por la maquinaria de la biogénesis de los miRNA y son procesados por la enzima DICER; posteriormente son incorporados al RISC y actúan como los miRNA endógenos.

Además, miR-22 puede modular el fenotipo de las VSMC humanas y de ratón al regular al mRNA de los genes de la proteína homóloga del sitio de integración del virus ecotrópico 1 (*EVI1/Evi1*) y de la proteína de unión a metil-CpG 2 (*MECP2/Mecp2*) [88]. EVI1 y MECP2 son represores transcripcionales de múltiples genes contráctiles de VSMC por modificaciones epigenéticas [79,82]. Tanto EVI1 como MECP2 modulan las regiones promotoras de genes específicos de las VSMC por medio de la trimetilación de la lisina 9 de la histona 3 (H3K9me3) [79,82], por lo que de esta manera pueden regular el cambio fenotípico de las VSMC.

La utilización de un mimético de miR-22-3p disminuye los niveles de HMGB1 en muestras de tejido arterial humano con aterosclerosis obliterante y en HASMC *in vitro*, porque este miRNA se dirige al mRNA del gen de la caja 1 del grupo de alta movilidad (*HMGB1*), lo que reduce la proliferación y migración de las células [80]. La proteína HMGB1 aumenta anormalmente durante la aterosclerosis, expresándose en aorta humana, CE, VSMC y macrófagos [80]; está implicada en el cambio del fenotipo de las VSMC provocando su proliferación y migración al unirse al receptor para productos finales de glucosilación avanzada (RAGE), mejora la expresión del inflammasoma NLRP3, y puede activar la señalización de NF-κB a través de TLR4, lo que provoca la traducción de citocinas proinflamatorias [80].

microRNA-29b: miR-29b se encuentra aumentado en pacientes con enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis, en aorta de ratones ateroscleróticos, en HUVEC cultivadas en presencia de ox-LDL *in vitro* y en VSMC humanas estimuladas con ox-LDL *in vitro* [83,84]. Además, en pacientes con síndrome coronario agudo se ha observado que los niveles de miR-29b están disminuidos [85]. Uno de los blancos de miR-29b es el mRNA del gen de la proteína sprouty homóloga 1 (*SPRY1*) [84]; la proteína SPRY1 se considera un inhibidor de la vía de señalización de P38/MAPK, vía que es activada durante la aterosclerosis por ox-LDL, que regula la producción de VCAM-1 y MCP-1, además, de regular la permeabilidad de las CE, lo que favorece el desarrollo y progresión de la aterosclerosis [84].

En HUVEC tratadas con ox-LDL *in vitro*, se observó que miR-29b aumentaba la expresión ICAM-1 y NF- κ B, al dirigirse al mRNA del gen de la metalotioneína 1A (*MT1A*), inhibiendo su traducción [86]. La melatonina regula el tono vascular al interactuar con sus receptores específicos, como el receptor MT1A, lo que juega un papel importante en la patogénesis de la aterosclerosis, debido a sus propiedades antiinflamatorias [86]. Además, estudios recientes han sugerido que el MT1A es un inhibidor relevante de la apoptosis endógena en leucocitos y que disminuye la permeabilidad de las CE [86].

Otro blanco de miR-29b es el mRNA del gen de la metaloproteínasa de matriz 2 (*MMP2*) [85]; la proteína MMP-2 aumenta su producción debido a ox-LDL y es liberada en EV de VMSC sintéticas en placas ateroscleróticas, lo que conduce a un desequilibrio de la síntesis y degradación de la matriz extracelular y, por tanto, en la inestabilidad de las placas [87]. miR-29b, al unirse al mRNA del gen *MMP2*, disminuye su traducción, lo que evita la inestabilidad de la placa [85]. Sin embargo, se cree que cuando aumenta la producción de IL-3, los niveles de este microRNA disminuyen, por lo que la MMP-2 puede inducir sus efectos, como se ha observado en pacientes con síndrome coronario agudo [85].

microRNA-33: La familia miR-33 consta de dos miRNA, miR-33a y miR-33b, que se encuentran codificados en los intrones de los genes de la proteína de unión al elemento de respuesta a esteroides, *SREBP2* y *SREBP1*, respectivamente; genes que están implicados en la regulación del metabolismo de ácidos grasos y colesterol [88,89]. Estos miRNA junto con sus genes hospederos se co-transcriben juntos y ayudan a mantener la homeostasis de lípidos dentro de las células [88]. En sujetos sanos, miR-33a y miR-33b evitan una pérdida mayor de lípidos, al dirigirse a los mRNA (blanco) de genes implicados en el flujo de colesterol, como Niemann Pick C (*NPC1*), *ABCA1* y el gen del transportador dependiente de ATP G1 (*ABCG1*); y a genes implicados en la β -oxidación de ácidos grasos, como carnitina palmitoiltransferasa 1A (*CPT1A*) y carnitinaO-octanoiltransferasa (*CROT*) [88,89].

En humanos y en modelos de ratones *ApoE*^(-/-) ateroscleróticos, se ha observado un aumento de la expresión de miR-33a en las placas ateroscleróticas y, aumento de

expresión de miR-33b en pacientes con contenidos altos de colesterol en sangre [90]. En ratones *ApoE^{-/-}*, se ha demostrado que miR-33 regula la formación de las placas ateroscleróticas al dirigirse al mRNA del gen *Abca1*, lo que provoca la formación de macrófagos espumosos por la acumulación de lípidos [63,90]. En humanos, se ha observado que miR-33 puede limitar aún más la salida de colesterol durante los momentos de depleción de esteroides, ya que se puede dirigir tanto al mRNA del gen *ABCA1* como al del gen *NPC1*, ambos transportadores de colesterol [91]. Además, en ratones *Mir33^{-/-}* se ha demostrado que la pérdida del gen *Mir33* aumenta la capacidad de los macrófagos de expulsar colesterol *in vivo* [91].

Se ha reportado que el tratamiento con antagomiR de miR-33 en ratones ateroscleróticos reduce el tamaño de las placas ateroscleróticas [89,90]. Sin embargo, otros estudios no han observado dicha reducción [88] y se ha documentado que, a largo plazo, la utilización de anti-miR-33 provoca hipertrigliceridemia y esteatosis hepática en ratones [92,93]. Price y colaboradores [91] demostraron que la reconstitución de ratones *Ldlr^{-/-}* con médula ósea deficiente en miR-33 reduce significativamente la acumulación de lípidos en placas ateroscleróticas, tanto en el tamaño total de la placa, el área central necrótica y en el número de células apoptóticas. Además, observaron que la pérdida de miR-33 en ratones *Ldlr^{-/-}* da como resultado un aumento significativo en el peso corporal y una disminución de la sensibilidad a la insulina [91], que se ve agravada por una alimentación con dieta occidental, lo que sugiere que estos efectos compensen los efectos beneficiosos antes vistos.

microRNA-34a: Existen niveles elevados de miR-34a en placas ateroscleróticas de pacientes humanos y en ratones *ApoE^{-/-}* [94]. Además, se ha reportado que el tratamiento de células RAW267.4 [94] y HAEC [95] con ox-LDL *in vitro*, aumentó significativamente la expresión de miR-34a. miR-34a modula la salida de colesterol en los macrófagos, al dirigirse al mRNA de los genes *ABCA1* y *NR1H3* (receptor nuclear subfamilia 1 grupo H miembro 3) en humanos y, además, *Abcg1* en ratones [94]. El tratamiento de células THP-1 humanas, macrófagos primarios humanos y células RAW264.7 de ratón con miméticos de miR-34a inhibió la traducción de la

proteína ABCA1 o ABCG1, mientras que el antagoniR de miR-34a obtuvo efectos opuestos.

En HAEC miR-34a puede aumentar la apoptosis de las células al dirigirse al 3' UTR del mRNA del gen de la histona deacetilasa 1 (*HDAC1*) [95]. HDAC1 es un regulador positivo de la proliferación celular [96], que puede inhibir la apoptosis celular al regular a TP53, debido a que MDM2 puede promover su desacetilación, reclutando un complejo que contiene HDAC1. El complejo HDAC1 se une a MDM2 de una manera independiente de TP53, y lo desacetila en todas las lisinas acetiladas conocidas *in vivo*. [96]. Además, se ha demostrado que la utilización de oligonucleótidos antisentido de miR34-a en HAEC *in vitro* aumenta los niveles de la proteína HDAC1 y disminuye la apoptosis [95].

miR-34a promueve la calcificación vascular a través de la mineralización de VSMC, al inhibir su proliferación e inducir senescencia, al dirigirse al mRNA de los genes del receptor de la cinasa de tirosina AX (*AXL*) y a la sirtuina 1 (*SIRT1*) [97,98]. AXL es un receptor antiapoptótico que regula la proliferación al activar la vía PI3K/ AKT [97] inhibiendo a TP53; por su parte, SIRT1 actúa protegiendo a las células contra el estrés oxidativo y genotóxico, previniendo la senescencia desacetilando a TP53, y también está asociada con la longevidad, debido a que desacetila a la proteína de caja *forkhead* O1 (*FOXO1*), incrementando la transcripción de enzimas antioxidantes como la catalasa (*CAT*) y la superóxido dismutasa de manganeso (*MnSOD*) y, por lo tanto, aumentando la resistencia al estrés oxidativo [98], por lo que al inhibir la traducción de SIRT1, también aumenta la inflamación [98].

microRNA-122: miR-122 es un miRNA conservado entre las especies de vertebrados y es el más abundante en hígado humano; se libera a la circulación de forma constante a través de los exosomas hepáticos en condiciones normales [99]. En humanos, se ha reportado que existen niveles elevados de miR-122 en plasma de pacientes con enfermedad arterial coronaria, el infarto de miocardio y el shock cardiogénico [99,100]. Además, se ha sugerido que miR-122 puede tener efectos metabólicos adversos y puede estar asociado con enfermedades metabólicas [100].

Wang y colaboradores [101] identificaron que, en pacientes con lesiones ateroscleróticas, miR-122 se encontraba significativamente a alza, además, de que existía una correlación positiva entre los niveles séricos de miR-122 y la gravedad de la aterosclerosis [101]. Anteriormente, Gao y colaboradores [99] habían indicado que los niveles plasmáticos elevados de miR-122 se correlacionaban con la hiperlipidemia y la enfermedad arterial coronaria.

miR-122 puede aumentar la apoptosis, disminuir la autofagia y aumentar la inflamación en fibroblastos adventicios (AF) aórticos de ratas, al dirigirse al mRNA del gen *Sirt6*, y se ha observado el efecto contrario al inhibir este miRNA con antagomiR [102]. La activación de la señalización de SIRT6-elabela-ACE2 (elabela se refiere a un péptido hormonal, también conocido como ELA, y ACE2 a la enzima convertidora de angiotensina 2) es la responsable de los efectos beneficiosos de la inhibición de miR-122 [102]. Se ha observado que el aumento de SIRT6 aumenta los niveles del mRNA de ELA en AF de rata, en respuesta a angiotensina II (ATII). ELA, junto con el receptor de apelina (APJ), ejerce efectos cardiovasculares protectores, ya que relaja los vasos sanguíneos aórticos y reduce la presión arterial sistólica, al mejorar la expresión ACE2, lo que puede tener un efecto positivo en pacientes con hipertensión [102].

En un modelo *in vitro* de HAEC que fueron tratadas con ox-LDL, se demostró que miR-122 promueve la apoptosis al dirigirse al 3' UTR del mRNA del gen del inhibidor de la apoptosis ligado al cromosoma X (*XIAP*) [103], otro blanco de este microRNA, el cual es el único inhibidor endógeno de las caspasas en mamíferos que inhibe la ejecución de la apoptosis, a través, de la unión de las caspasas activas 3 y 7 con sus dominios repetidos IAP de baculovirus (BIR2) y el dominio de la región enlazadora, y la unión de la caspasa-9 procesada con su dominio BIR3 [103].

microRNA-125: Los niveles de miR-125a-5p están regulados al alza en células endoteliales vasculares humanas inducidas con ox-LDL *in vitro* [104] y en monocitos humanos THP-1 inducidos con ox-LDL [104]. miR-125a-5p está involucrado con la activación del inflamasoma NLRP3 y la transposición de NF- κ B al núcleo, debido a la unión al 3' UTR del mRNA del gen *TET2* (TET (translocación diez-once)

metilcitosina dioxigenasa 2), contribuyendo al desarrollo de la aterosclerosis [104]. TET2 es una enzima reguladora epigenética que cataliza la oxidación de 5-metilcitosina (5mc) en el DNA a 5-hidroximetilcitosina (5hmc) [104]. TET2 lleva la desmetilación por reparación por escisión de base (BER) al promotor del gen de la cisteína γ -liasa (CSE), mediada por la timina DNA glicosilasa (TDG) para generar citosinas no metiladas, que conduce a la desmetilación activa del ADN, lo que produce efectos protectores sobre la disfunción de las células endoteliales vasculares [104].

La inhibición de la traducción de TET2 en células endoteliales humanas utilizando un mimético de miR-125a-5p, produce la metilación anormal del DNA [104], lo que conduce a la disfunción mitocondrial e induce la producción de ROS, lo que lleva a la activación del inflammasoma NLRP3 y, por tanto, a la activación de la caspasa-1 [105]. Además, ROS puede activar NF- κ B, lo que produce la síntesis de citocinas proinflamatorias [105]. La utilización de oligonucleótidos antisentido de miR-125a-5p, se ha reportado que tiene el efecto contrario [104].

Sin embargo, en pacientes con placas ateroscleróticas rotas, se observa una disminución de miR-125a-5p y miR-125b-5p [106]. La disminución de los niveles de estos miRNA está relacionada con placas ateroscleróticas inestables. En células endoteliales vasculares humanas, la utilización de miméticos de miR-125a-5p y miR-125b-5p suprimieron la traducción de la endotelina 1 (*EDN1*) al dirigirse al 3' UTR de su mRNA *in vitro* [106]. El gen *EDN1* codifica para la proteína ET1 que está vinculada en el progreso y la rotura de la placa aterosclerótica, debido a que tiene efectos mitogénicos sobre las VSMC y los fibroblastos, estimulando la síntesis de mediadores inflamatorios en los macrófagos, y de fibronectina en las células del músculo liso, lo que respalda su papel en la patogénesis de la aterosclerosis [106].

Los niveles de miR-125a-3p se encuentran regulados a la baja en las VSMC de arterias restenóticas humanas, en comparación con sujetos sanos [107]. El miR-125a-3p puede inhibir la proliferación y migración de VSMC humanas tratadas con ox-LDL *in vitro*, al dirigirse al mRNA del gen de la proteína cinasa 1 activada por mitógenos (*MAPK1*) [107]. La vía MAPK está involucrada en la expresión de

diversas moléculas asociadas con la proliferación, diferenciación, migración, senescencia y apoptosis celular [108].

Por su parte, miR-125b puede inhibir la proliferación y migración de HUVEC y células del músculo liso vascular de aorta humana (HA-VSMC) tratadas con ox-LDL *in vitro* al dirigirse al gen de podocalixina (*PODXL*) [108]. *PODXL* es una glucoproteína de la superficie celular, que tiene un papel proliferativo y adhesivo, al funcionar como un ligando adhesivo para los leucocitos que expresan L-selectina [108]. Además, en HA-VSMC se ha observado que miR-125b inhibe la adquisición del fenotipo sintético en las VSMC, al dirigirse al mRNA del gen osterix (*SP7*) [110]. *SP7* es un factor de transcripción que regula la diferenciación de VSMC a osteoblastos [110].

microRNA-126: El miRNA endotelial más abundante en adultos y durante la diferenciación de las CE es el miR-126 [111]. Los niveles de miR-126-3p en las MV endoteliales circulantes están reducidos en pacientes con diabetes y en pacientes con enfermedad arterial coronaria, y se encuentran aumentados en pacientes con angina inestable [111,112]. Además, en ratones *ApoE^{-/-}*, se ha observado que los niveles de miR-126-5p disminuyen al generar una región de bajas fuerzas de rozamiento, por una ligación parcial de la arteria carótida [112], lo que simularía a las regiones propensas a aterosclerosis en comparación con regiones protegidas de la aterosclerosis, probablemente debido a la supresión del factor 2 similar a krüppel (*KLF2*) por la alteración del flujo, factor que regula positivamente la transcripción de este microRNA [112].

Uno de los blancos de miR-126-5p es el mRNA del gen de la proteína homóloga a delta 1 (*DLK1*) [112]. La proteína *DLK-1* es un inhibidor de *NOTCH1*, responsable de la proliferación celular, por lo que la reducción de la traducción del mRNA del gen *DLK1*, aumenta la proliferación celular [112]. En HUVEC, la inhibición de miR-126-5p utilizando antagomiR, aumentó los niveles de la proteína *DLK-1* y se produjo la consecuente reducción de la proliferación de CE, mientras que el aumento de miR-126-5p utilizando un mimético, provocó el efecto contrario [112]. Sin embargo, en las regiones propensas a aterosclerosis, los niveles de este microRNA están

disminuidos, esto les impide a las CE responder al estrés hiperlipidémico; así mismo, se demostró que la proliferación insuficiente de las CE promueve la aterosclerosis [112]. No obstante, en zonas con fuerzas de rozamiento elevadas que no son propensas a aterosclerosis, miR-126-5p aumenta la capacidad regenerativa de las CE al dirigirse a este blanco [112].

Durante la progresión de la aterosclerosis, en las VSMC se generan cuerpos apoptóticos que contienen miR-126-3p; uno de sus blancos es el mRNA del gen del regulador de la señalización de la proteína G 16 (*RGS16*) [113]. La proteína RGS16 regula negativamente al receptor 4 de quimiocinas con motivo C-X-C (CXCR4), por lo que, al disminuir sus niveles, aumenta la secreción del ligando de quimiocinas (motivo C-X-C) 12 (CXCL12) por otras células vasculares, lo que reduce el reclutamiento de células inflamatorias, aumenta la estabilidad de la placa y mejora la regeneración endotelial, teniendo así un efecto ateroprotector; esto se ha observado tanto en HUVEC, VSMC y CE aórticas de ratón *in vitro* [113,114]. Además, miR-126-3p se une al mRNA del gen *VCAM1*, lo que disminuye su traducción y la adhesión de leucocitos en HUVEC, lo que puede contribuir a su función ateroprotectora [115]. Cabe aclarar que todavía no queda claro el papel del aumento de los niveles circulantes de miR-126-3p en pacientes con angina inestable, que podría ser atribuible a cambios en su nivel de expresión en las MV [113,114].

microRNA-130a: El miRNA-130a se encuentra incrementado en ratones con aterosclerosis [116] y en suero de pacientes con aterosclerosis obliterante [117]. Este miRNA promueve la inflamación (aumenta la producción de citocinas como TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8) y acelera la aterosclerosis a través de la regulación a la baja de la expresión del gen *PPARG* en HUVEC *in vitro*. PPAR γ restringe la actividad del factor de transcripción NF- κ B y puede reducir al factor inflamatorio TNF- α para regular la respuesta inflamatoria y prevenir la formación de las placas [116]. Además, miR-130a inhibe la proliferación de las VSMC primarias de la arteria femoral humana, al dirigirse al mRNA del gen de la proteína 2B relacionada con la autofagia (*ATG2B*) [118]. ATG2B es necesario para la fusión de la membrana con los lisosomas [118], por lo que es importante para la autofagia. La autofagia está

implicada en la regulación de la proliferación al modular la citogénesis, la supervivencia celular y la protección contra la disfunción celular [118].

miR-130a-3p participa en diversos procesos de regulación en HUVEC *in vitro*, al dirigirse al mRNA del gen del receptor 2 de esfingosina-1-fosfato (*S1PR2*) [119]. *S1PR2* regula la permeabilidad endotelial, y al ser activada por esfingosina-1-fosfato (*S1P*) induce la disfunción de la barrera endotelial seguida de la vía de la RhoA/RhoA cinasa, lo que provoca la desorganización de la actina F y el desensamblaje de la proteína de unión estrecha [119]. Además, la expresión de este microRNA está regulada por el receptor X hepático α (*LXR- α*) [119].

microRNA-141: miR-141-3p es regulado a la baja en VSMC humanas de la arteria coronaria primaria tratadas con ox-LDL *in vivo*, en pacientes con aterosclerosis y en ratones ateroscleróticos [120,121]. Por otro lado, se ha observado que miR-141-5p se expresa de forma anormal durante la patogénesis de una variedad de enfermedades humanas, incluidas las cardiovasculares y es regulado a la baja en VSMC humanas tratadas con ox-LDL [122].

El aumento de miR-141-3p utilizando un mimético, inhibe la proliferación y migración de las VSMC tratadas con ox-LDL, al dirigirse al mRNA del gen de la proteína miembro de la familia Wnt 5A (*WNT5A*) [120], uno de sus blancos. Se ha observado que la proteína *WNT5A* está aumentada en macrófagos humanos THP-1, y en VSMC humanas de arteria coronaria primaria tratadas con ox-LDL *in vitro*, así como en pacientes con aterosclerosis [123]. *WNT5A* tiene diversas funciones en la embriogénesis, la homeostasis de órganos, diversos procesos celulares y, durante la aterosclerosis, participa en proliferación/migración de VSMC, lo que indica un papel proaterosclerótico [120]. *WNT5A* se une a los receptores Frizzled (*FZD*) y a los receptores huérfanos de tipo cinasa de tirosina 1 o 2 (*ROR1/2*), lo que activa la vía *WNT/Ca²⁺* que involucra *Ca²⁺/proteína cinasa II dependiente de calmodulina (CaMKII)* y calcineurina (*CaN*). Posteriormente, la *CaN* desfosforila el factor nuclear de las células T activadas (*NF-AT*), lo que conduce a la translocación de *NF-AT* al núcleo, donde inicia la transcripción del gen *SOX9* (factor de transcripción 9 de la caja *SRY*), induciendo la expresión de proteínas de la matriz extracelular como la

proteína Aggrecan (ACAN), colágeno tipo II alfa (COL2A1), factor de transcripción SOX5 (SOX5) y SOX6 [120, 124,125].

El miR-141-3p también puede inhibir la proliferación y migración de las VSMC humanas al dirigirse al mRNA del gen de la proteína 1 asociada a ECH de tipo Kelch (*KEAP1*) *in vitro* [121]. En condiciones fisiológicas, KEAP1 se une a NRF2 (factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide 2), lo que hace que NRF2 sea incapaz de funcionar, pero puede ser estimulado por reguladores como ROS, lo que desacopla la unión de estas proteínas, y transloca a NRF2 hacia el núcleo, donde activa a genes antiinflamatorios y antioxidantes [121]. Sin embargo, KEAP1 se encuentra sobreexpresado durante la aterosclerosis, lo que aumenta las respuestas inflamatorias y la disfunción de las VSMC [121].

En VSMC humanas tratadas con ox-LDL y posteriormente con un mimético de miR-141-5p, se ha observado que se reduce la proliferación anormal y migración de las VSMC, además, de disminuir la respuesta inflamatoria al dirigirse al mRNA del gen *HMGB1* [122]. Estudios *in vivo* en ratones *ApoE^{-/-}* con aterosclerosis han demostrado que la inhibición de la proteína HMGB1 con glicirricina disminuye el área de la placa aterosclerótica y restaura la proporción de células T_{reg}/Th₁₇ [126], por lo que miR-141-5p podría utilizarse para ver dichos efectos.

microRNA-143: El miR-143 se expresa en VSMC, CE y en células inflamatorias [127]. Los niveles de miR-143 se encuentran disminuidos en pacientes con un nivel elevado de homocisteína (hiperhomocisteinemia) [128], en pacientes con placas en la arteria carótida [129], y en VSMC proliferativas de arterias ateroscleróticas en ratones *ApoE^{-/-}* [130] La regulación a la baja de miR-143 en vasos lesionados o ateroscleróticos se asocia con la proliferación y la diferenciación de las VSMC a fenotipo sintético [130-132].

Algunos de los blancos de miR-143 son los mRNA de los genes *KLF4* y *KLF5* [127,129,131]. La proteína KLF4 se encarga de antagonizar la expresión de los genes contráctiles, lo que permite que las VSMC adquieran el fenotipo sintético, que es altamente proliferativo y migratorio, y que está implicado en los procesos

ateroscleróticos [130]. Por su parte, KLF5 en las VSMC regula la expresión de la forma embrionaria de la cadena pesada de la miosina del músculo liso, que se expresa selectivamente en un fenotipo de músculo liso desdiferenciado proliferativo (VSMC sintético) [131]. Así, este microRNA tiene un efecto ateroprotector durante la aterosclerosis; sin embargo, su expresión se ve disminuida durante la formación de la neoíntima y en presencia de PDGF [131].

En 2015, Zhang y colaboradores [132] descubrieron que existía un circuito regulador entre la metiltransferasa de DNA 3a (DNMT3a, enzima que contribuye a la metilación *de novo*) y miR-143. Uno de los blancos de miR-143 es el mRNA del gen *DNMT3A*, por lo que inhibe su traducción. Sin embargo, se ha observado que la hipermetilación aberrante del DNA de miR-143 por parte de DNMT3A es el responsable de la regulación a la baja en la expresión de miR-143 en las VSMC humanas inducidas por homocisteína *in vitro*, lo que provoca la proliferación de estas células [132]. La homocisteína es un metabolito intermedio de la metionina que puede inducir disfunción endotelial, formación de células espumosas y promover la proliferación de las VSMC, por lo que se ha considerado como un factor de riesgo importante e independiente en el desarrollo de aterosclerosis [132]. Cabe resaltar, que se ha reportado que la homocisteína provoca el aumento de la expresión de la DNMT3A, lo que regula a miR-143 y puede aumentar la proliferación de las VSMC; sin embargo, todavía no se conoce el mecanismo por el cual se lleva a cabo esta regulación [132].

microRNA-144: Uno de los blancos de miR-144-3p es el mRNA del gen del transportador *ABCA1* [133]. El transportador de colesterol ABCA1 es importante para el eflujo del colesterol en macrófagos durante la aterosclerosis [63] y la disminución de este transportador provoca la formación de las células espumosas [133]. En células monocíticas humanas THP-1 y en macrófagos murinos J774, la utilización de un mimético de miR-144-3p *in vitro*, demostró que los niveles del transportador ABCA1 disminuían [133]. Además, en ratones *ApoE^{-/-}* alimentados con una dieta alta en grasas, la administración del mimético de miR144-3p aceleró el progreso del ateroma, al aumentar el contenido de macrófagos en la placa y promover la producción de citocinas proinflamatorias [133].

Así mismo, la utilización de oligonucleótidos antisentido de miR-144-3p en macrófagos murinos J774 *in vitro*, aumentó los niveles del transportador ABCA1 [133] y en ratones *Ldlr*^(-/-) machos redujo el área de la lesión [134], aumentó los niveles de HDL en plasma circulante y mejoró el eflujo del colesterol en los macrófagos, pero en ratones hembra no. Las diferencias específicas de sexo pueden contribuir a los efectos del silenciamiento de miR-144-3p en el desarrollo de la aterosclerosis *in vivo* [134]. En los ratones macho se observó que el silenciamiento de miR-144-3p aumentó 4 veces más los niveles de la enzima metabolizadora de oxisterol y esteroide 7-alfa-hidroxilasa (CYP7B1, enzima que metaboliza el 27-hidroxicolesterol), en comparación con ratones hembra [134].

Por otro lado, se ha observado que la utilización de un mimético de miR-144-5p puede inhibir la proliferación y migración en HUVEC tratadas con ox-LDL, al unirse al 3' UTR del mRNA del gen *SMAD1* [135]. La activación de *SMAD1* promueve la angiogénesis, inhibe la deposición de matriz extracelular, y promueve la proliferación y migración de CE [132]; esto gracias a que media la señalización de la proteína BMP, y ésta aumenta la fosforilación de *SMAD1*, lo que le permite formar complejos con *GAL4* para actuar como un regulador funcional de la transcripción [135]. Sin embargo, aún se necesitan más estudios para comprender mejor el papel del miR-144-5p en la aterosclerosis [133-135].

microRNA-145: En condiciones normales, miR-145 es el miRNA mayormente expresado en la pared vascular [136]. Además, en modelos experimentales de lesión vascular y en la aterosclerosis humana su expresión se encuentra disminuida [137-139]. El miR-145 tiene como blancos algunos mRNA de genes como el factor similar a Krüppel-4/5 (*KLF-4/5*) y *ELK1* que promueven el fenotipo sintético de las VSMC [127,130,136]. La disminución de la expresión del factor *KLF-4/5* por parte de este miRNA provoca el aumento de la expresión de miocardina y de genes del músculo liso contráctil lo que promueve un fenotipo contráctil en las VSMC [136]. En modelos de ratones *ApoE*^(-/-), al administrar un mimético de miR-145 se limitó la carga de la placa en ratones propensos a la aterosclerosis [137]. Además, en placas ya formadas, redujo la inflamación y aumentó el área de la capa fibrosa y el contenido de colágeno, lo que dio lugar a la estabilización de la placa [136,137]. En

experimentos *in vitro* con VSMC sintéticas derivadas de pacientes con aterosclerosis se observó que el mimético de miR-145 pueden restaurar por completo el fenotipo contráctil de las VSMC [137].

Otro de los blancos del miR-145 es el mRNA del gen del receptor F11 (*F11R*) [138], el cual se encuentra sobreexpresado en pacientes con aterosclerosis [138]. F11R junto con su ligando, el antígeno asociado a la función de los linfocitos-1 (LFA-1), promueven el aumento de la permeabilidad endotelial, al flexibilizar las uniones estrechas y promover la migración de CE [138]. Yang y colaboradores [138] demostraron que el tratamiento con exosomas derivados de células madre mesenquimales de cordón umbilical humano (HUC-MS) ricos en miR-145 regulan a la baja a F11R, inhiben la migración de CE *in vitro* y reducen la placa aterosclerótica *in vivo* en ratones *ApoE*^(-/-).

microRNA-155: Se ha observado que miR-155 se expresa en gran medida en macrófagos activados [139-141], en plasma de pacientes con síndrome coronario agudo, y en plasma de pacientes con aterosclerosis [142,143]. Algunos de los blancos de miR-155 son los mRNA de los genes de la proteína 6 del linfoma de células B (*BCL6*) [142,143], la proteína supresora de la señalización por citocinas-1 (*SOCS1*) [144,145] y el factor de transcripción 1 asociado a la caja HMG (grupo de alta movilidad, por sus siglas en inglés) (*HBP1*) [146]. *BCL6* es una proteína que en los macrófagos inhibe la expresión de la quimiocina MCP-1 [142,143]. De hecho, se ha observado que el silenciamiento del gen *Bcl6* en ratones alimentados con una dieta alta en grasas aumenta el área de la lesión aterosclerótica y el número de macrófagos de lesión [144].

Se ha demostrado que miR-155, tanto en modelos de ratones *ApoE*^(-/-) como en macrófagos humanos THP-1 *in vitro* estimulados por ox-LDL, promueve la respuesta inflamatoria y la progresión de la aterosclerosis al dirigirse al mRNA del gen *SOCS1* [145]. La proteína *SOCS1* funciona como regulador negativo de la vía de señalización JACK/STAT [145], por lo que miR-155, al disminuir la traducción de la proteína *SOCS1*, potencializa la señalización sobre STAT3, lo que promueve la producción de citocinas y quimiocinas proinflamatorias, como MCP-1, IL-5, y TNF-

α [145]. Además, se confirmó que al bloquear a miR-155 con antagomiR-155 en ratones *ApoE*^(-/-) con dietas altas en grasas, aumenta la estabilidad de las placas ateroscleróticas al disminuir la cantidad de macrófagos y al aumentar la deposición de colágeno en éstas [145].

Por su parte, la proteína HBP1 disminuye la producción de ROS al reprimir la expresión del factor citosólico de neutrófilos 1 (NCF1), proteína citosólica que forma parte de la NADPH oxidasa, en las células endoteliales, y es capaz de suprimir la captación de lípidos al reprimir también al factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF) [146]. Cuando miR-155 regula a la baja la traducción de dicha proteína, induce la formación de células espumosas, ya que aumenta la captación de lípidos por parte de los macrófagos, además, aumenta la producción de ROS, lo que favorece el desarrollo de la aterosclerosis [146].

microRNA-217: Los niveles de miR-217 se encuentran elevados en macrófagos humanos THP-1 tratados con ox-LDL y en pacientes con aterosclerosis [147]. Sin embargo, en HAEC tratadas con ox-LDL y en ratones *ApoE*^(-/-) ateroscleróticos, este miRNA se encuentra significativamente disminuido [148,149]. El miR-217 puede aumentar la apoptosis y la inflamación (al aumentar la producción de IL-1 β e IL-6) en macrófagos THP-1 al dirigirse al mRNA de gen *SIRT1* [147]. Además, estudios *in vitro* han demostrado que la utilización de antagomiR de miR-217 en macrófagos THP-1 tratados con ox-LDL, inhibe el aumento de triglicéridos, colesterol total y la inflamación, y existe un aumento de la concentración de la proteína SIRT1 [147].

Sin embargo, se ha observado que, en HAEC tratadas con ox-LDL, miR-217 puede regular el daño inflamatorio al dirigirse al mRNA del gen de la proteína de respuesta de crecimiento temprano 1 (*EGR1*), lo que reduce su traducción [147]. El aumento de EGR1 conduce a la regulación positiva del factor tisular, TNF- α , IL-1 α/β , ICAM-1, PDGF y TGF- β [148]. Además, miR-217 inhibe la apoptosis de las células endoteliales aórticas tratadas con ox-LDL, al dirigirse al mRNA del gen del canal intracelular de cloruro 4 (*CLIC4*) [149]. El aumento de CLIC4 está altamente relacionado con el aumento de TP53 y la apoptosis celular; sin embargo, su participación todavía sigue siendo poco clara.

microRNA-325: Pu y colaboradores [150], descubrieron que miR-325 se encuentra aumentado en tejidos arteriales de ratones ateroscleróticos. Además, observaron que miR-325 inhibía el eflujo de colesterol en células RAW264.7 y aumentaba la viabilidad de las HA-VSMC, lo que contribuye al desarrollo de la aterosclerosis [150]. Estos efectos se atribuyen a que uno de los blancos de este miRNA, es el mRNA del gen de la desmetilasa de lisina 1A (*KDM1A*) [150], un gen que codifica para la enzima KDM1A que modula la dinámica de la metilación de las histonas y de proteínas no histonas [150], que está relacionada con la producción de SREBP-1 que es importante junto con la síntesis de esteroides para la actividad del receptor LXR α , que contribuye a la potenciación de los transportadores de colesterol y el eflujo de éste, mecanismo por el cual los macrófagos expulsan el colesterol adicional, frenando la aterosclerosis [150].

Cuando el miR-325 se une con su blanco, disminuye los niveles de la enzima KDM1A y por tanto, disminuye el eflujo del colesterol en los macrófagos, contribuyendo al desarrollo de la aterosclerosis [150]. Aunque el papel exacto de KDM1A en la regulación del eflujo de colesterol sigue sin estar del todo claro, ahora se sabe que miRNA-325 modula la progresión de la aterosclerosis en ratones y en VSMC de ratones, después del tratamiento con ox-LDL, a través, del eje KDM1A/SREBF1 /LXR α /ABCA1, lo que lo convierte en un posible blanco para el tratamiento de la aterosclerosis [150]. Además, la inhibición de miR-325 en ratones facilitó el eflujo del colesterol, disminuyendo en el suero el contenido de colesterol total, triglicéridos y niveles de citocinas proinflamatorias como IL-6, IL-1 β y TNF- α [150].

microRNA-410: Algunos estudios han demostrado que la exposición con ox-LDL aumenta los niveles de miR-410 en las HUVEC cultivadas y en la aorta torácica del ratón [151], además, de incrementar los niveles de citocinas proinflamatorias y de moléculas de adhesión [151]. Uno de los blancos de miR-410 es el mRNA del gen *HDAC1*, el cual codifica para la proteína HDAC1, que se dirige al factor de transcripción KLF5, aumentando la expresión de IKB α , lo que suprime a NF-kB y, por tanto, la producción de citocinas proinflamatorias [151]. Cuando miR-410 se une a su blanco, los niveles de HDAC1 disminuyen, por lo que NF-kB puede inducir la

transcripción de citocinas proinflamatorias y favorecer la progresión de la aterosclerosis [151]. Se ha demostrado que la regulación a la baja de KLF5 protege contra la aparición de lesiones vasculares [127,131].

El silenciamiento de miR-410 o la sobreexpresión de *HDAC1* en las HUVEC con aterosclerosis *in vitro*, aumenta la viabilidad celular, suprime la apoptosis y la reacción inflamatoria [151]. Además, el bloqueo de miR-410 promueve la expresión de HDAC1 y aumenta los niveles de IKB α a través de KLF5 para suprimir NF- κ B, previniendo así el desarrollo de la aterosclerosis [151].

microRNA-1914-5p: La expresión de miR-1914-5p está regulada a la baja en pacientes con enfermedad arterial coronaria [152]. En células endoteliales vasculares humanas EA.hy926, se ha observado que el agotamiento de miR-1914-5p está relacionado con el aumento de la expresión de ICAM-1 y la adhesión de monocitos a las células [153]. Además, la IL-1 β disminuye la expresión de miR-1914-5p en las células EA.hy926 [153], la cual es una citocina que se ha observado que está sobreexpresada en la aterosclerosis [154]; aunque el mecanismo por el cual lleva a cabo dicha disminución no está del todo dilucidado. La utilización de un mimético de miR-1914-5p suprime la adhesión de monocitos y la expresión de ICAM-1 inducida por IL-1 β en las células endoteliales [153], por lo que dicho microRNA puede evitar el desarrollo de la aterosclerosis. Este efecto se puede deber a que uno de los blancos del miR-1914-5p es el mRNA del gen que codifica para la proteína que contiene motivos tripartita 14 (*TRIM14*) [153].

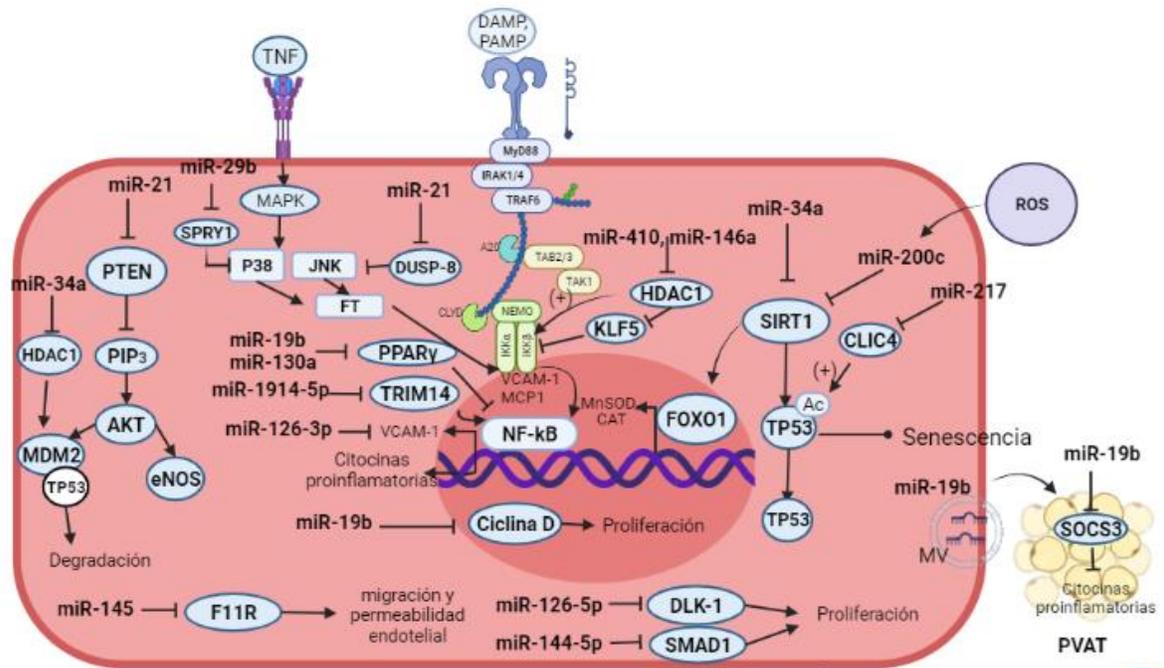
La proteína TRIM14 es un regulador positivo de la activación endotelial, a través de la activación de la vía de señalización NF- κ B [155]. Se ha observado que TRIM14 se expresa en gran medida en las CE vasculares humanas y que es estimulada altamente por efectos inflamatorios, tanto *in vitro* como *in vivo* [155]. TRIM14 actúa como una proteína adaptadora que facilita la interacción de NEMO y TAK, mediante la cual se promueve la señalización de NF- κ B, inducida por citocinas como TNF- α y la IL-1 β , y por la activación endotelial [155].

Otros microRNA: miR-146a puede aumentar la producción de citocinas proinflamatorias al dirigirse al mRNA del gen *Hdac1* en ratones ApoE^(-/-)

ateroscleróticos *in vivo* [156]. De hecho, la inhibición de miR-146a con oligonucleótidos antisentido en ratones ateroscleróticos, redujo los niveles de colesterol total, triglicéridos, LDL-C, TNF- α e IL-6, y aumentó los niveles de HDL, MnSOD y CAT [156].

En HUVEC *in vitro*, se ha observado que miR-200c es activado por ROS y puede acelerar la senescencia en las células endoteliales al dirigirse al mRNA del gen *SIRT1* [157]. Por su parte, miR-19a puede mantener un estado proliferativo bajo en las HUVEC *in vitro* al inhibir la traducción de la ciclina D1 (*CCND1*) al unirse a la región 3' UTR de su mRNA, lo que provoca que estas células sean incapaces de repararse [158]. La ciclina D1 forma un complejo y funciona como una subunidad reguladora de las cinasas dependientes de ciclina (CDK) 4 o 6, y la actividad del complejo ciclina D/CDK4/6 es necesaria para la transición G1/S del ciclo celular [158]. Además, otros microRNA pueden inducir a la formación de células espumosas, al dirigirse al mRNA del gen *ABCA1* como miR-758, miR-128-2, miR-148a y miR-106b [47].

En las siguientes figuras (Figura 10, 11 y 12) se muestra un resumen de la participación de diversos miRNA involucrados en el desarrollo de la aterosclerosis, al participar en la disfunción de las CE, la adquisición del fenotipo osteogénico de las VSMC y en la formación de células espumosas.



Created in BioRender.com bio

Figura 10. Participación de los microRNA en la disfunción endotelial y la senescencia celular en la aterosclerosis. La senescencia de las CE es un estado celular que se ha atribuido a un aumento de la probabilidad de aterogénesis. Diversos microRNA (miRNA) participan en los procesos de disfunción y senescencia de células endoteliales (CE), tales como miR-34a y miR-200c, que inhiben la traducción de proteínas que se encargan de regular la inflamación vascular en respuesta de estímulos que alteran la homeostasis celular. Algunos miRNA como miR-410, participan en diferentes procesos celulares, ocasionando el aumento del ambiente inflamatorio durante la aterosclerosis. También existen otros miRNA que son considerados ateroprotectores debido a que regulan negativamente procesos que aumentan la progresión de la aterosclerosis como miR-126-5p. DAMP, patrones moleculares asociados a daño; PAMP, patrones moleculares asociados a patógenos; HDAC1, histona deacetilasa 1; MDM2, proteína ligasa de ubiquitina E3 Mdm2; PIP₃, fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato; PTEN, proteína homóloga de fosfatasa y tensina; AKT, proteína cinasa B; eNOS, óxido nítrico sintetasa endotelial; F11R, receptor F11; SPRY1, proteína *sprouty* homóloga 1; TNF, factor de necrosis tumoral; MAPK1, proteína cinasa 1 activada por mitógenos; JNK, cinasa N-terminal c-jun ; FT, factor de transcripción, DUSP-8, fosfatasa de doble especificidad 8; PPAR γ , receptor y activado por el proliferador de peroxisomas; TRIM14, proteína que contiene motivos tripartita 14 ; NF- κ B, factor de transcripción nuclear kappa B; KLF5, factor de tipo Krüppel 5; SIRT1, sirtuina 1; CLIC4, canal intracelular de cloruro 4; DLK-1, proteína homóloga a delta 1; SMAD1, proteína de la familia SMAD miembro 1; SOCS3, supresor de la señalización de citocinas 3; PVAT, tejido adiposo perivascular; VCAM-1, molécula de adhesión de células vasculares 1; MV, microvesículas; ROS, especies reactivas de oxígeno. (Figura creada en Biorender.com).

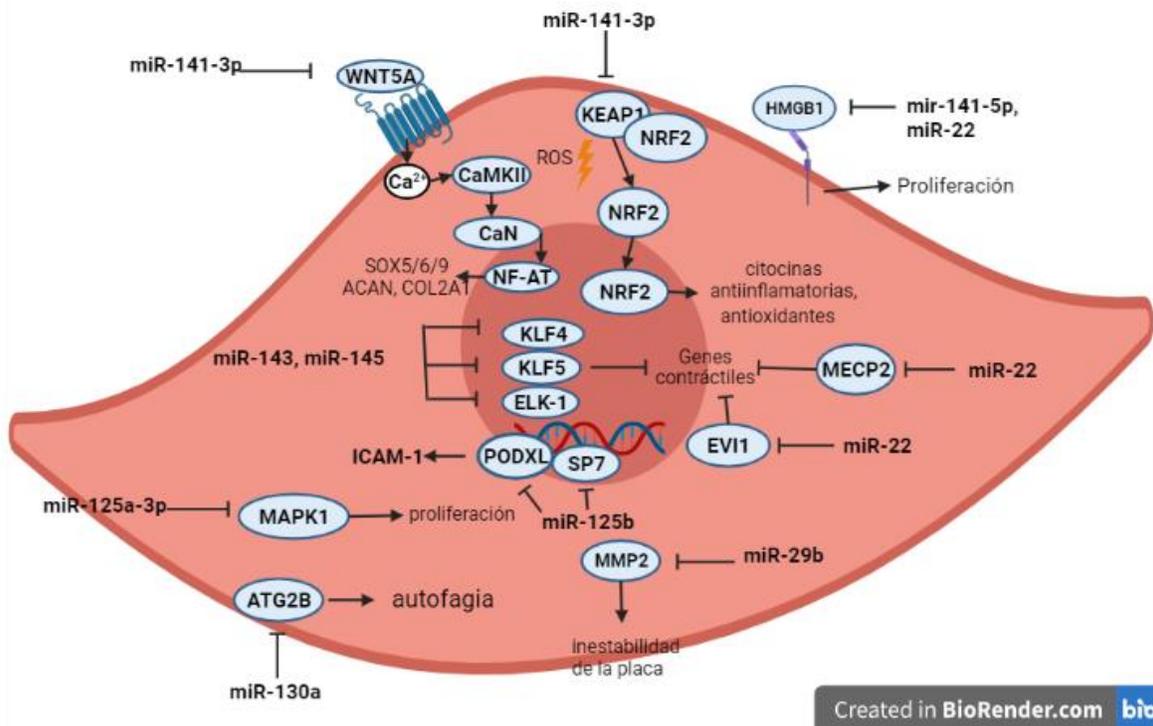


Figura 11. Participación de los microRNA en la proliferación y diferenciación de células de músculo liso vascular en la aterosclerosis. Algunos miRNA evitan la transdiferenciación de las células del músculo liso vascular (VSMC) a un fenotipo sintético que son responsables de la calcificación de las placas ateroscleróticas, ya que inhiben la traducción de proteínas que inhiben a los genes contráctiles, tal como miR-143. Por otra parte, otros miRNA inhiben la proliferación y migración de las VSMC, por ejemplo, inhibiendo la vía MAPK que está involucrada en la expresión de diversas moléculas. MAPK1, proteína cinasa activada por mitógenos 1; ATG2B, proteína 2B relacionada con la autofagia; WNT5A, proteína miembro de la familia Wnt 5A; CaMKII, calmodulina; NF-AT, factor nuclear de las células T activadas; ACAN, proteína Aggrecan; COL2A1, colágeno tipo II alfa; SOX5/6/9, factor de transcripción 5/6/9 de la caja SRY; KLF4/5, factor de tipo Krüppel 4/5; ELK-1, proteína 1 que contiene el dominio ETS; PODXL, podocalixina; SP7, osterix; MMP2, metaloproteínasa de matriz 2, EVI1, proteína homóloga del sitio de integración del virus ecotrópico 1; MECP2, proteína de unión a metil-CpG 2; KEAP1, proteína 1 asociada a ECH de tipo Kelch; NRF2, factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide 2; HMGB1, proteína de la caja 1 del grupo de alta movilidad; ICAM-1, molécula de adhesión intercelular 1. (Figura creada en Biorender.com).

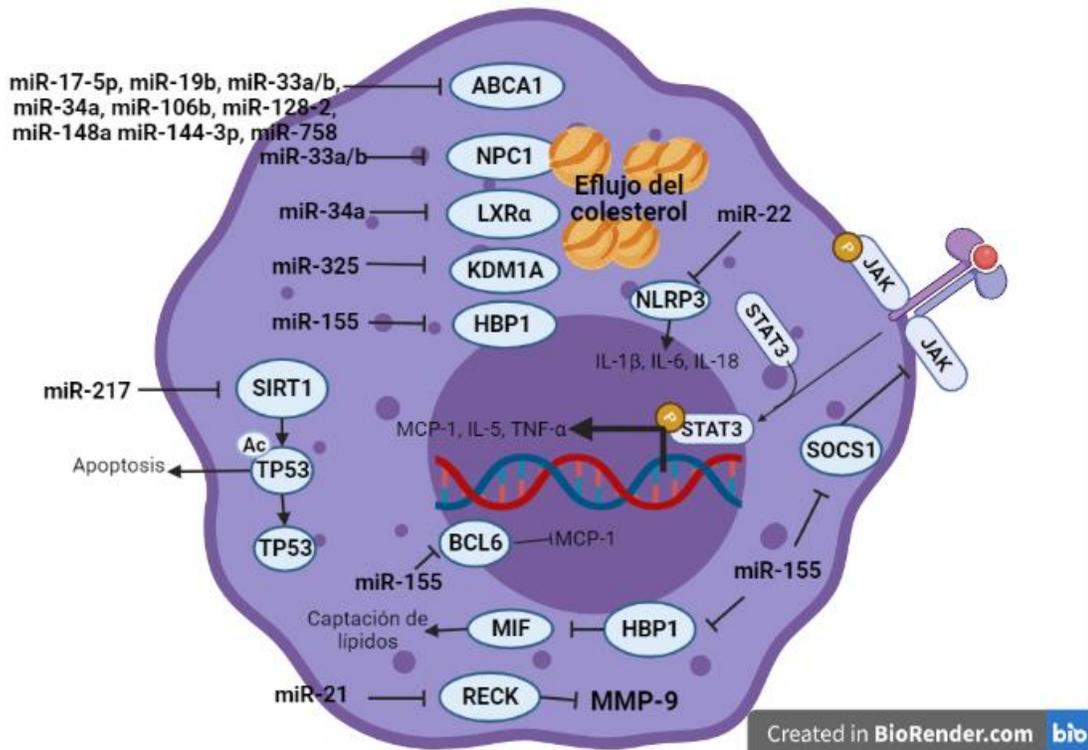


Figura 12. Participación de los microRNA en la formación de las células espumosas en la aterosclerosis. Diversos microRNA son responsables de la formación de células espumosas, ya que impiden el eflujo del colesterol, provocando que éstas queden atrapadas dentro de la íntima arterial donde sufren apoptosis debido al estrés celular, contribuyendo a la formación del núcleo necrótico protrombótico de las placas. Por su parte, existen otros miRNA, que son responsables de promover el reclutamiento de monocitos a las placas, aumentar la captación de lípidos y la producción de citocinas proinflamatorias como miR-155. ABCA1, transportador dependiente de ATP A1; NPC1, transportador de colesterol Niemann-Pick C; LXR α , receptor X hepático α ; KDM1A, lisina desmetilasa 1; HBP1, factor de transcripción asociado a la caja HMG; SIRT1, sirtuina 1; BCL6, proteína 6 del linfoma de células B; MIF, factor inhibidor de la migración de macrófagos; RECK, proteína rica en cisteína inductora de reversión con motivos kazales; SOCS1, supresor de la señalización de citocinas 1; STAT3, traductor de señales y activador de la transcripción 3; NLRP3, receptor tipo NOD que contiene un dominio de Pirina 3; JACK, cinasa activada por Janus; MCP-1, proteína quimioatrayente de monocitos 1; TNF- α , factor de necrosis tumoral α . (Figura creada en Biorender.com).

8. Las vesículas extracelulares y los microRNA como biomarcadores de aterosclerosis

Debido a que las vesículas extracelulares están presentes en diferentes fluidos biológicos, se ha tenido un gran interés en su utilización como biomarcadores de diferentes patologías [53,160]. Sin embargo, la manipulación, el retraso y el almacenamiento de muestras de plasma son las principales fuentes de pérdida de la composición de las vesículas extracelulares, por lo que es muy importante la estandarización encabezada por la ISEV [32].

Existen estudios que han reportado que los niveles de EV en sangre periférica correlacionan con la presencia de enfermedades cardiovasculares y cardiometabólicas, es decir, en estas patologías las EV están aumentadas, como es el caso de diabetes mellitus, obesidad, aterosclerosis, enfermedad arterial coronaria e infarto de miocardio [26-33]. Además, se ha observado que, en pacientes con enfermedades cardiovasculares, los niveles plasmáticos de exosomas provenientes de plaquetas, leucocitos, eritrocitos y CE aumentan respecto a sujetos sanos [44]. Así mismo, en pacientes con síndrome coronario agudo se generan MV en monocitos, CE y en plaquetas, cuando estas últimas son activadas [44].

En la aterosclerosis, las placas contienen grandes cantidades de EV derivadas principalmente de leucocitos, que reflejan la inflamación local, y en la cual existe una correlación entre el aumento de MV principalmente, y la progresión de la placa aterosclerótica [33,161]. Asimismo, la detección de anexina V en las MV que son liberadas a la circulación por las CE, puede usarse como un biomarcador potencial de daño endotelial durante las complicaciones ateroscleróticas. Además, en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 con aterosclerosis asintomática, también se ha demostrado la presencia de anexina V en MV que son originadas por CE apoptóticas [161]. De igual manera, se ha reportado que el contenido de anexina V en las EV plaquetarias está elevado en pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigótica con mutaciones en el gen del receptor de lipoproteínas de baja

densidad (*LDLR*) con placa aterosclerótica, en comparación con pacientes sin placa [162].

Las EV de leucocitos podrían también ser un biomarcador potencial para determinar la vulnerabilidad de la placa, debido a que varios estudios sugieren que las EV leucocitarias están elevadas en pacientes con placas carotídeas inestables, en comparación con pacientes con estenosis carotídea estable [160]. Otro posible biomarcador para la detección temprana de aterosclerosis es la GTPasa RAP1 (proteína relacionada con Ras 1), que está en grandes cantidades en EV de pacientes con síndrome cardiometabólico [163].

Es importante recalcar que los diferentes miRNA contenidos en las EV pueden ser utilizados como biomarcadores, debido a que se encuentran aumentados o disminuidos en pacientes con aterosclerosis comparados con individuos sanos, y porque tienen una alta estabilidad al estar unidos con partículas de HDL [47,160]. Además, también los miRNA pueden estar circulando en la sangre permaneciendo estables en el suero y otros fluidos corporales porque están protegidos de la degradación por las RNAasas, muy probablemente por la alta estabilidad de la proteína AGO2 y los complejos AGO2-miRNA [41-43], lo que aumenta la posibilidad de que se utilicen como biomarcadores para el diagnóstico de la aterosclerosis y diversas enfermedades [47]. En la actualidad, los miRNA circulantes se han estudiado como biomarcadores eficaces para detectar tempranamente las enfermedades cardiovasculares y evitar sus complicaciones [160,162]. Cabe resaltar que, una de las principales ventajas en la utilización de los miRNA como biomarcadores es por la sensibilidad y sencillez de las técnicas utilizadas para su cuantificación, como es la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa (RT-qPCR), realizada en tiempo real [47]. Diferentes estudios han reportado que se puede detectar la desregulación de los miRNA tanto en plasma como en suero de pacientes con enfermedad arterial coronaria [164]. Además, se ha informado que para la detección de miRNA en plasma es mejor la utilización de EDTA como anticoagulante, en lugar de citrato o heparina al momento de la recolección de la muestra [164]. A continuación, en la Tabla 2 se muestran los microRNA circulantes que pueden ser utilizados como biomarcadores [47].

Tabla 2. Posibles microRNA circulantes que podrían ser utilizados como biomarcadores de aterosclerosis y enfermedades relacionadas.

MicroRNA	Incremento o disminución en enfermedades cardiovasculares	Ref.
miR-1	Incrementado en pacientes SCA y aumenta el valor diagnóstico del marcador de lesión cardíaca hs-Tn	[165] [166]
miR-10a	Disminuido en pacientes con EAC y niveles más bajos en pacientes con IAMCEST	[167] [168]
miR-17-5p	Incrementado en pacientes con EAC	[59] [165]
miR-21	Incrementado en pacientes con ictus, en pacientes con EAC y en pacientes con SCA. En SCA aumenta el valor diagnóstico de la hs-Tn	[70] [71] [165] [166]
miR-22	Disminuida en pacientes con ECA	[78] [169]
miR-122	Incrementado en pacientes con EAC, IAM y shock cardiogénico. Posible biomarcador de inestabilidad de la placa aterosclerótica	[99] [100]
miR-126	Incrementado en pacientes con AI; aumenta el riesgo de IAM	[111] [170]
miR-130a	Incrementado en pacientes con aterosclerosis ocliterante	[117]
miR-133a	Aumenta en pacientes con EAC e IAM. Además, está más elevado en pacientes con IAMCEST	[171] [172] [173]
miR-134	Incrementado en pacientes con EAC e IAM. Además, está más elevado en pacientes con IAMCEST	[173]
miR-141	Disminuido en pacientes con aterosclerosis.	[120]
miR-143	Disminuido en pacientes con hiperhomocisteinemia y en pacientes con íplacas en la arteria carótida	[128] [129]
miR-144	Aumentado en pacientes con EAC	[160]
miR-145	Disminuido en pacientes con EAC y en pacientes con SCA	[174] [175]
miR-146a	Incrementado en pacientes con SCA	[166]
miR-155	Incrementado en pacientes con SCA y en pacientes con ECA	[139] [140] [142]
miR-208a	Marcador de diagnóstico detectable temprano de IAM	[171] [172]
miR-208b	Marcador de diagnóstico detectable temprano de IAM y de predicción de mortalidad	[171] [172]
miR-320a	Incrementado en pacientes con IAM	[171] [176]
miR-499	Incrementado en pacientes con SCA e IAM; aumenta el valor diagnóstico de la hs-Tn; además, está más elevado en pacientes con IAMCEST	[166] [171] [176]
miR-1914-5p	Disminuido en pacientes con EAC	[152]

AI, angina inestable; IAM, infarto agudo al miocardio; EAC, enfermedad arterial coronaria; SCA, síndrome coronario agudo; IAMCEST, infarto de miocardio con elevación de segmento ST; hs-Tn, troponina de alta sensibilidad.

También se ha informado un mejor pronóstico de las enfermedades relacionadas con la aterosclerosis al utilizar diferentes miRNA juntos como biomarcadores, como en la detección de angina de pecho inestable, que con la combinación de miR-132, miR-150 y miR-186 [177] se tuvo un mejor diagnóstico en comparación con biomarcadores clásicos combinados como hs-TnI (troponina de alta sensibilidad), péptido natriurético de tipo B (BNP), proteína C reactiva y cistatina C [177]. Además, la búsqueda de miRNA en tejidos diferentes a la sangre que son menos accesibles, también han sido menos útiles para el análisis de biomarcadores [165].

Por último, es importante resaltar que se necesitan realizar estudios a gran escala en humanos para validar el potencial de los miRNA como biomarcadores de la enfermedad aterosclerótica y sus complicaciones [165]. Así mismo, estos estudios deben concentrarse en determinar el valor pronóstico de las desregulaciones del miRNA antes de la aparición de síntomas cardiovasculares clínicos, ya que, en la mayoría de las investigaciones, no se ha podido determinar este valor por falta de seguimiento en los pacientes [165].

9. Discusión

En el pasado se consideraba a la aterosclerosis como una enfermedad cuyo origen y progresión se debía únicamente al almacenamiento de lípidos en las arterias [3,4]. Posteriormente, diferentes estudios reportaron que los mecanismos inflamatorios que son mediados por el sistema inmunológico, como el reclutamiento de los leucocitos en el sitio de la lesión, participaban en la progresión de las lesiones ateroscleróticas [11-16]. En la actualidad, se han dilucidado aún más los mecanismos involucrados en el desarrollo de la aterosclerosis, por lo que diferentes estudios han informado la participación de las EV y los microRNA en el desarrollo y la progresión de las placas ateroscleróticas [9,34,43-49,51,52,47-58,178-180].

La característica más importante de la aterosclerosis es la formación de las placas ateroscleróticas, también conocidas como ateromas [6], los cuales están formados por un núcleo lipídico, un núcleo necrótico constituido por macrófagos apoptóticos y una capa fibrosa gruesa que se forma por la secreción progresiva de compuestos como colágeno, elastina y fibronectina por parte de las VSMC sintéticas [13,16]. En la aterosclerosis, las EV participan regulando la comunicación intercelular entre los leucocitos, CE y las VSMC a través de la secreción de diferentes moléculas como los miRNA, que modulan los procesos relacionados con el desarrollo de la placa aterosclerótica [37,40,47,55,178], además de otras moléculas implicadas en la inflamación y la infiltración de células inflamatorias en las placas como ICAM-1, VCAM-1, IL-6, IL-8, MCP-1, selectina E y ROS [43], por lo que tanto las EV y los miRNA juegan un papel central en el inicio de la patogénesis y la progresión de esta enfermedad [45-51,178].

A continuación, en la Tabla 3 se encuentra un resumen de los miRNA que están aumentados durante la aterosclerosis, y en la Tabla 4 un resumen de los miRNA que se encuentran disminuidos durante la aterosclerosis.

Tabla 3. microRNA que se encuentran aumentados durante la aterosclerosis.

microRNA	Efectos sobre la progresión de la aterosclerosis	Gen del mRNA blanco	Efecto en la aterosclerosis Aumento (↑) Reducción (↓)	Modelo <i>in vivo/in vitro</i>	Ref.
miR-1	Ateroprotector	<i>MYLK/Mylk</i>	↓VCAM-1	HUVEC, ratones <i>ApoE^{-/-}</i>	[53]
	Proaterogénico	<i>KLF4</i>	↑E-selectina, ↑VCAM-1, ↑ICAM-1, ↑IL-1 ↑MMP-1	Hepatocitos esteatóticos humanos	[55]
miR-19a	Proaterogénico	<i>CCND1</i>	↓Proliferación de las CE e incapacidad para repararse	HUVEC	[158]
miR-19b	Proaterogénico	<i>ABCA1/Abca1</i>	Formación de células espumosas, ↑CT, ↑CL	Macrófagos humanos THP-1 y peritoneales de ratón, ratones <i>ApoE^{-/-}</i>	[65]
		<i>SOCS3/Socs3</i>	↑ Citocinas proinflamatorias, ↑macrófagos	Células humanas Caco2 y HT29, PVAT ratones <i>ApoE^{-/-}</i>	[67]
		<i>PPARG</i>	↑ Citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-6 e IL-8	HUVEC	[68]
miR-19b-3p	Proaterogénico	<i>PPARGC1A</i>	↓ Mitocondrias, ↑ROS, ↑ estrés oxidativo, ↑ citocinas proinflamatorias	HAEC	[66]
miR-17-5p	Proaterogénico	<i>ABCA1/Abca1</i>	Formación de células espumosas, ↑ CT, ↑CL	Ratones <i>ApoE^{-/-}</i> , macrófagos humanos THP-1	[60]
		<i>VLDLR/Vldlr</i>	↑ LDL en plasma	Ratones <i>ApoE^{-/-}</i> ateroscleróticos, macrófagos de ratón RAW264.7	[61]
miR-21	Ateroprotector	<i>PTEN</i>	↓Apoptosis, ↑ fosforilación del eNOS	HUVEC	[72]
		<i>Pdcd4</i>	↓ Citocinas proinflamatorias	Macrófagos peritoneales de ratón WT C57BL/6	[73]
	Proaterogénico	<i>DUSP8/Dusp8</i>	↑ Migración y la adhesión de macrófagos	Macrófagos derivados de médula ósea de ratón, macrófagos THP1, células endoteliales humanas	[76] [77]
		<i>RECK</i>	↑MMP-9, inestabilidad de la placa	Macrófagos humanos	[75]

Continuación de la Tabla 3.

microRNA	Efectos sobre la progresión de la aterosclerosis	Gen del mRNA blanco	Efecto en la aterosclerosis Aumento (↑) Reducción (↓)	Modelo <i>in vivo/in vitro</i>	Ref.
miR-29b	Proaterogénico	<i>SPRY1</i>	↑VCAM-1, ↑MCP-1, ↑ permeabilidad endotelial	HUVEC	[84]
		<i>MT1A/Mta1</i>	↑Permeabilidad endotelial, ↑apoptosis, ↑ICAM-1, ↑NF-κB	Ratones <i>ApoE^{-/-}</i> , ratones <i>miR-29b^{-/-}</i> , HUVEC	[86]
	Ateroprotector	<i>MMP2</i>	Evita la inestabilidad de la placa.	VSMC humanas	[85]
miR-33a	Proaterogénico	<i>ABCA1/Abca1</i>	Formación de células espumosas, ↑ CT, ↑CL	Ratones <i>ApoE^{-/-}</i> , <i>miR-33^{-/-}</i> y <i>Ldlr^{-/-}</i> , macrófagos THP-1	[90] [91]
miR-33b	Proaterogénico	<i>ABCA1</i>	Formación de células espumosas, ↑ CT, ↑CL	Macrófagos humanos THP-1,	[90]
miR33a/b	Proaterogénico	<i>NPC1</i>	Formación de células espumosas, ↑ CT, ↑CL	Macrófagos humanos THP-1	[91]
miR-34a	Proaterogénico	<i>Abcg1</i>	Formación de células espumosas, ↑CT y CL en plasma	Células RAW264.7 de ratón, Ratones <i>ApoE^{-/-}</i> , ratones <i>Ldlr^{-/-}</i>	[94]
		<i>ABCA1/Abca1</i>	Formación de células espumosas, ↑ CT y CL en plasma	Células RAW264.7, macrófagos THP-1, ratones <i>ApoE^{-/-}</i>	[94]
		<i>NR1H3</i>	Formación de células espumosas, ↑ CT y CL en plasma	Macrófagos THP-1	[94]
		<i>HDAC1</i>	↑ Apoptosis	HAEC	[95]
		<i>AXL</i>	↑Senescencia, ↓proliferación, ↑calcificación	HASMC	[97]
		<i>SIRT1</i>	↑Senescencia, ↓CAT, ↓MnSOD, ↓proliferación, ↑calcificación	HASMC	[97] [98]
miR-122	Proaterogénico	<i>Sirt6</i>	↑Apoptosis, y la inflamación ↓autofagia	AF aórticos de rata	[102]
		<i>XIAP</i>	↑ Apoptosis	HAEC	[103]
miR-125a-5p	Proaterogénico	<i>TET2</i>	Activación del inflammasoma, ↑citocinas proinflamatorias, ↓ Autofagia	HUVEC	[104]
	Ateroprotector	<i>EDN1</i>	↓Disfunción endotelial	HUVEC	[106]

Continuación de la Tabla 3.

microRNA	Efectos sobre la progresión de la aterosclerosis	Gen del mRNA blanco	Efecto en la aterosclerosis Aumento (↑) Reducción (↓)	Modelo <i>in vivo/in vitro</i>	Ref.
miR-125b	Ateroprotector	<i>EDN1</i>	↓ Disfunción endotelial	HUVEC	[106]
		<i>PODXL</i>	↓ ICAM-1, ↓ adhesión	HA-VSMC, HUVEC	[109]
		<i>SP7</i>	Las VSMC no adquieren un fenotipo sintético	HA-VSMC	[110]
miR-130a	Proaterogénico	<i>PPARG</i>	↑ Citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-6 e IL-8	HUVEC	[116]
		<i>ATG2B</i>	↓Autofagia, ↓Proliferación de VSMC	VSMC primarias de artera femoral humana	[118]
miR-130a-3p	Ateroprotector	<i>S1PR2</i>	↓Permeabilidad endotelial	HUVEC	[119]
miR-144-3p	Proaterogénico	<i>ABCA1/Abca1</i>	Formación de células espumosas, ↑CT, ↑CL, ↑macrófagos en la placa	Monocitos humanos THP-1, macrófagos murinos J774, ratones <i>ApoE^(-/-)</i> y <i>Ldlr^(-/-)</i>	[133] [134]
		<i>SMAD1</i>	↓ Proliferación de CE, ↓ migración de CE. ↑apoptosis de CE	HUVEC	[135]
miR-146a	Proaterogénico	<i>Hdac1</i>	↑ Citocinas proinflamatorias	Ratones <i>ApoE^(-/-)</i>	[95]
miR-155	Proaterogénico	<i>BCL6/Bcl6</i>	↑ MCP-1	Macrófagos humanos THP-1	[142] [143]
		<i>SOCS1/Socs1</i>	↑ Citocinas proinflamatorias, ↑ macrófagos en las placas	Ratones <i>ApoE^(-/-)</i> , macrófagos THP-1	[144] [145]
		<i>HBP1</i> <i>Hbp1</i>	↑ROS, formación de células espumosas	Ratones <i>ApoE^(-/-)</i> , macrófagos THP-1, células Raw264.7	[146]
miR-200c	Proaterogénico	<i>SIRT1</i>	↑Senescencia de CE, ↓eNOS	HUVEC, HEK293 y mioblastos murinos C2C12	[157]

Continuación de la Tabla 3.

microRNA	Efectos sobre la progresión de la aterosclerosis	Gen del mRNA blanco	Efecto en la aterosclerosis Aumento (↑) Reducción (↓)	Modelo <i>in vivo/in vitro</i>	Ref.
miR-217	Proaterogénico	<i>SIRT1</i>	↑Apoptosis de macrófagos, ↑inflamación.	Macrófagos humanos THP-1	[147]
	Ateroprotector	<i>EGR1</i>	↓Inflamación, ↓factor tisular, ↓TNF-α, ↓IL-1α/β, ↓ICAM-1	HAEC	[148]
		<i>CLIC4</i>	↓Apoptosis	CE aórticas humanas	[149]
miR-325	Proaterogénico	<i>KDM1A/Kdm1a</i>	↑ Formación de células espumosas	Células RAW264.7, HA-VSMC, ratones <i>ApoE^{-/-}</i>	[150]
miR-410	Proaterogénico	<i>HDAC1</i>	↑Citocinas proinflamatorias y moléculas de adhesión, ↑Apoptosis	HUVEC	[151]

CT; colesterol total; CL, colesterol libre; CE, células endoteliales; VSMC, células del músculo liso vascular; HA-VSMC, células del músculo liso vascular de aorta humana; HUVEC, células endoteliales de la vena umbilical humana; HASMC, células de músculo liso vascular de arterias humanas; AF, fibroblastos adventicios; *MYLK*, gen de la cinasa de la cadena ligera de miosina; *KLF4/5*, gen del factor 4/5 similar a Kruppel; *CCND1*, gen de la ciclina D1; *ABCA1*, gen del transportador dependiente de ATP A1; *SOCS1/3*, gen supresor de la señalización de citocinas 1/3, *PPARG*, gen del receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas; *PPARGC1A*, gen del coactivador 1 alpha del receptor activado por el proliferador de peroxisomas gamma; *VLDLR*, gen del receptor de lipoproteínas de muy baja densidad; *PTEN*, gen homólogo de fosfatasa y tensina; *Pdcd4*, gen la proteína de muerte celular programada 4; *DUSP8*, gen de la fosfatasa de doble especificidad 8; *RECK*, gen de la proteína rica en cisteína que induce la reversión con motivos Kazal; *SPRY1*, gen de la proteína sprouty homóloga 1; *MT1A*, gen de metalotioneína 1; *MMP2*, gen de la metaloproteínasa de matriz 2; *NPC1*, transportador de colesterol Niemann-Pick C; *Abcg1*, gen del transportador dependiente de ATP g1; *NR1H3*, receptor nuclear subfamilia 1 grupo H miembro 3; *HDAC1*, gen de la histona deacetilasa 1; *SIRT1/6*, gen de la sirtuina 1/6; *XIAP*, gen de la proteína del inhibidor de la apoptosis ligada al cromosoma X; *VCAM1*, gen de la molécula de adhesión de células vasculares 1; *ATG2B*, gen de la proteína 2B relacionada con la autofagia; *SMAD1*, *Mothers against decapentaplegic homolog*; *BCL6*, gen de la proteína 6 del linfoma de células B; *HBP1*, gen de la proteína 1 de transcripción de la caja del grupo de alta movilidad; *EGR1*, gen de la proteína de respuesta de crecimiento temprano-1; *CLIC4*, gen del canal intracelular de cloruro 4; *KDM1A*, gen de la lisina-desmetilasa 1; *TET2*, gen TET (translocación diez-once) metilcitosina dioxigenasa 2; *S1PR2*, gen del receptor 2 de esfingosina-1-fosfato; *PODXL*, gen de podocalixina; *EDN1*, gen de la endotelina 1; *SP7*, gen osterix; *AXL*, gen del receptor de la tirosina cinasa AX.

Tabla 4. microRNA que se encuentran disminuidos durante la aterosclerosis.

microRNA	Efectos sobre la progresión de la aterosclerosis	Gen del mRNA blanco	Efecto en la aterosclerosis Aumento (↑) Reducción (↓)	Modelo <i>in vivo/in vitro</i>	Ref.
miR-10a	Ateroprotector	<i>GATA6/Gata6</i>	↓ VCAM-1	CE humanas, ratones <i>ApoE^{-/-}</i>	[56]
miR-22	Ateroprotector	<i>NLRP3</i>	↓ inflamación	Macrófagos humanos THP1,	[81]
		<i>EVI1/Evi1</i>	↑ VSMC contráctiles	VSMC humanas y de ratón	[79]
		<i>MECP2/Mcep2</i>	↑ VSMC contráctiles	VSMC humanas y de ratón	[79]
		<i>HMGB1/Hmgb1</i>	↓ Proliferación y migración de VSMC ↓ citocinas proinflamatorias	HASMC, modelo de lesión por balón de la carótida de rata.	[80]
miR-125a-3p	Ateroprotector	<i>MAPK1</i>	↓ Proliferación de VSMC, ↓ migración de VSMC	VSMC	[107]
miR-126-5p	Ateroprotector	<i>DLK1</i>	↑ Proliferación de CE	HUVEC	[112]
miR-126-3p	Ateroprotector	<i>RGS16/Rgs16</i>	↓ Reclutamiento de células inflamatorias, estabilidad en la placa, regeneración endotelial	HUVEC, células del músculo liso y células endoteliales aórticas	[113]
		<i>VCAM1</i>	↓ Adhesión de leucocitos a CE activadas	HUVEC	[115]
miR-141-5p	Ateroprotector	<i>HMGB1</i>	↓ Proliferación de VSMC, ↓ migración de VSMC, ↓ inflamación	VSMC humanas de arteria coronaria primaria	[126]
miR-141-3p	Ateroprotector	<i>WNT5A</i>	↓ Proliferación VSMC, ↓ migración VSMC	Macrófagos humanos THP-1, VSMC humanas	[120] [123]
		<i>KEAP1/Keap1</i>	↓ Proliferación VSMC, ↓ migración VSMC, ↑ genes antiinflamatorios y antioxidantes	VSMC humanas de arteria coronaria primaria, ratones <i>ApoE^{-/-}</i>	[121]
miR-143	Ateroprotector	<i>KLF4/Klf4</i>	↓ Proliferación, ↓ fenotipo sintético en las VSMC	VSMC de rata, VSMC humanas, SMC de arteria pulmonar humana AO184, VSMC de arteria pulmonar de rata	[127] [129]
		<i>KLF5</i>	↓ Proliferación, ↓ fenotipo sintético en las VSMC	VSMC humanas	[131]

Continuación de la Tabla 4.

microRNA	Efectos sobre la progresión de la aterosclerosis	Gen del mRNA blanco	Efecto en la aterosclerosis Aumento (↑) Reducción (↓)	Modelo <i>in vivo/in vitro</i>	Ref.
miR-145	Ateroprotector	<i>KLF4/Klf4</i>	↓Proliferación y del fenotipo sintético en las VSMC	VSMC de rata, VSMC humanas, SMC de arteria pulmonar humana AO184, SMC de arteria pulmonar de rata	[127] [130] [136] [137]
		<i>KLF5/Klf5</i>	↓Proliferación y del fenotipo sintético en las VSMC	VSMC humanas, VSMC sintéticas humanas, ratones <i>ApoE^{-/-}</i>	[136] [137]
		<i>ELK1/Elk1</i>	↓Proliferación y del fenotipo sintético en las VSMC	VSMC huamanas, VSMC sintéticas humanas, ratones <i>ApoE^{-/-}</i>	[136]
		<i>F11R/F11r</i>	↓Migración de CE, ↓permeabilidad endotelial	CE humanas, ratones <i>ApoE^{-/-}</i> , HUC-MS C	[138]
miR-1914-5p	Ateroprotector	<i>TRIM14</i>	↓ICAM-1, ↓ adhesión de monocitos ↓Citocinas proinflamatorias	Células endoteliales vasculares humanas EA.hy926	[153]

CT; colesterol total; CL, colesterol libre; CE, células endoteliales; VSMC, células del músculo liso vascular; HA-VSMC, células del músculo liso vascular de aorta humana; HUVEC, células endoteliales de la vena umbilical humana; HASMC, células de músculo liso vascular de arterias humanas; AF, fibroblastos adventicios; *KLF4/5*, gen del factor 4/5 similar a Kruppel; *NLRP3*, gen del receptor tipo NOD que contiene un dominio de Pirina 3; *EVI1*, gen de la proteína homóloga del sitio de integración del virus ecotrópico 1; *GATA6*, proteína de unión a GATA 6; *MECP2*, gen de la proteína 2 de unión a metil-CpG; *HMGB1*, gen de la proteína de la caja 1 de grupo de alta movilidad; *DLK1*, gen de la proteína homóloga a delta 1; *VCAM1*, gen de la molécula de adhesión de células vasculares 1; *RGS16*, gen del regulador de la señalización de la proteína G 16; *WNT5A*, gen de la proteína miembro de la familia Wnt 5A; *KEAP1*, gen de la proteína 1 asociada a ECH de tipo Kelch; *TRIM14*, gen de la proteína que contiene motivos tripartita 14; *ELK1*, proteína 1 que contiene el dominio ETS; *F11R*, receptor F11.

En general, la patología de la aterosclerosis se puede dividir en tres etapas: estrías lipídicas, placas fibrosas y, lesiones avanzadas y trombosis [179,180]. La primera se caracteriza por la infiltración de macrófagos en la íntima de la pared arterial donde absorben el exceso de lípidos, dando lugar a la formación de las células espumosas; la segunda ocurre cuando las VSMC migran a la íntima de la pared arterial y generan la cubierta fibrosa de la placa (placa estable); y la tercera ocurre cuando el núcleo necrótico crece y la capa fibrosa disminuye, lo que provoca que los componentes del núcleo necrótico interactúen con las células y factores de coagulación de la sangre, desencadenando la trombosis [179,180].

La participación de los miRNA en el desarrollo de las placas ateroscleróticas se puede observar en 4 procesos generales, que a su vez participan en la modulación de los procesos inflamatorios y la calcificación vascular, como son:

- Senescencia y apoptosis celular
- Disminución de la autofagia
- Formación de las células espumosas
- Aumento de la proliferación y diferenciación de las VSMC a un fenotipo “sintético”

La senescencia celular es un proceso biológico que está estrechamente relacionado con la aterosclerosis y otras enfermedades relacionadas con la edad [181-185]; se caracteriza por el deterioro progresivo estructural y funcional de las células debido a la detención irreversible del ciclo celular en la fase G1/S o G2/M, que puede ser provocada por daño al DNA, estrés oxidativo, privación de nutrientes, agresiones oncogénicas, entre otras [181-186]. Varios estudios han informado que la detención irreversible del ciclo celular en las células senescentes es provocada principalmente por una regulación positiva de los inhibidores del ciclo celular como TP16 (inhibidor de cinasa dependiente de ciclina 2A), P21 (inhibidor de cinasa dependiente de ciclina 1A) y TP53 [181-186].

TP53 es un factor de transcripción que regula a genes asociados con el metabolismo de la autofagia, el ciclo celular y la apoptosis, y su actividad está sujeta

a modificaciones postraduccionales como la ubiquitinación, la fosforilación y la acetilación [182,183,185,186]. TP53 regula positivamente a P21, un miembro de los inhibidores de la cinasa dependiente de ciclina (CDK), requerida para la detención del ciclo celular en G1/s o G2/M. Al inhibir la apoptosis celular mediante la unión a caspasas, P21 promueve el estado senescente [182,183,185,186].

La senescencia celular en células cardiacas está asociada con diferentes enfermedades cardiovasculares, incluidas la aterosclerosis, la enfermedad cardiaca valvular, cardiomiopatías y arritmias [183]. En la aterosclerosis, la senescencia está implicada en diferentes etapas del desarrollo del ateroma [181,183,184]. Como se puede observar en la Tabla 3, algunos miRNA que se encuentran aumentados durante la aterosclerosis regulan negativamente a genes implicados en la senescencia celular como *AXL*, *PPARGC1A* y *SIRT1* [66,97,98]. El primero, codifica para el receptor *AXL*, encargado de activar la vía *PI3K/AKT*, vía responsable de la degradación de *TP53*; el segundo codifica para el coactivador *PGC-1 α* que está implicado en el aumento del número de mitocondrias, por lo que su disminución provoca senescencia celular y aumento de *ROS* [181]; y el último codifica para la proteína *SIRT1* que desacetila a *TP53*, por lo que al inhibir su traducción regulan positiva e indirectamente a *TP53*, provocando la senescencia en las células [187]. Asimismo, *SIRT1* puede limitar la senescencia endotelial debido a que desacetila a la cinasa hepática *B1 (LKB1)*, lo que aumenta su degradación y provoca una interacción entre *HERC2* (dominio *HECT* y *RLD* que contiene la proteína ligasa 2 de ubiquitina *E3*), una proteína de andamio gigante y la ligasa de ubiquitina *E3*, aumentando la proliferación y supervivencia de las células endoteliales [188].

Es importante destacar que *SIRT1* se expresa en gran medida en las CE regulando la función angiogénica durante el crecimiento vascular [187], incluida la producción de *NO* a partir de *eNOS*, lo que evita la disfunción endotelial al reducir el daño oxidativo [183,187]. Además, *SIRT1* puede desacetilar la región *K310* en la subunidad *P65* de *NF- κ B*, lo que contribuye a una regulación negativa de la actividad de este factor de transcripción [181,183]; también puede aumentar la producción de *CAT* y *MnSOD* al desacetilar a *FOXO1* [156]. Los niveles reducidos de *SIRT1* conducen a la regulación positiva de *NF- κ B* acetilado, lo que da como

resultado un aumento en las respuestas inflamatorias en diferentes células como en monocitos/macrófagos y en CE [188].

Aunque las células senescentes dejan de proliferar, estas permanecen metabólicamente activas y pueden promover la inflamación [184,185]. Varios autores han informado que las células senescentes adquieren un fenotipo proinflamatorio asociado a la senescencia (SASP), que contribuye a la progresión y desestabilización de las placas ateroscleróticas [181,183,185,186]. El fenotipo SASP en las células senescentes aumenta la secreción de EV (principalmente MV), lípidos bioactivos, citocinas y moléculas de adhesión (VCAM-1, ICAM-1), y disminuye la producción de NO, lo que media la inflamación, el reclutamiento de células inmunes, la modificación de la matriz extracelular y la remodelación tisular defectuosa [181], que contribuyen al desarrollo de la aterosclerosis [181,185,189]. Además, SASP al mismo tiempo que influye en el entorno circundante a través de efectos paracrinos, mantiene el estado celular senescente [183,186].

En un experimento donde se formaron CE senescentes por medio de rayos X, se observó que los monocitos tienen una mayor afinidad de unión a las CE senescentes comparada con la de CE sanas [190]. De hecho, se ha demostrado que, tanto la adhesión de plaquetas al endotelio inflamado (que es uno de los primeros pasos en la formación de la placa aterosclerótica y que está regulado por la expresión de F11R [191]), como la utilización del péptido F11R4D, antagonista de F11R, reducen la formación de la placa aterosclerótica y prolongan la supervivencia con una mejor salud en general en ratones *ApoE^{-/-}* [191], lo que también se ha visto con la utilización de miméticos de miR-145, que se dirigen al mRNA del gen *F11R*. Además, se ha observado que en CE senescentes tienen una mayor producción de ET1 y una menor producción de óxido nítrico, lo que conduce a inflamación y disfunción vascular [183,186].

Se ha reportado la existencia de VSMC senescentes tanto en vasos envejecidos como en placas ateroscleróticas [184]. En placas ateroscleróticas avanzadas, las VSMC se vuelven senescentes, lo cual está asociado con las tasas altas de proliferación de las VSMC durante el inicio de la formación de las placas

ateroscleróticas, y al estrés oxidativo, que provoca la disminución de la longitud de los telómeros [181,192]. Estas VSMC tienen una menor proliferación, mayores niveles de expresión de TP16 y TP21, producen cantidades menores de colágeno, contribuyendo a una mayor vulnerabilidad de la placa [192,193]. Las VSMC senescentes tienen una mayor expresión de citocinas proinflamatorias como IL-6, IL-1, IL-8, MIP1 α/β , CCL3/4 y MCP-1, al igual que la señalización mediada por TLR4 [183], lo que promueve el reclutamiento de monocitos, macrófagos y linfocitos, acelerando así, el crecimiento de la placa y el riesgo a la ruptura [183].

Además, se han identificado células T efectoras senescentes de memoria (T-EMRA) en placas ateroscleróticas inestables [194]. Sin embargo, en la actualidad todavía no existen estudios que demuestren que algún miRNA participe en la adquisición de la senescencia en las T-EMRA, pero es muy probable que también este proceso sea regulado por uno o más miRNA.

En la tabla 3, se puede observar que algunos miRNA aumentan las respuestas proinflamatorias dañinas, ya que se encargan de regular negativamente los genes *SOCS1* y *SOCS3*, cuyas proteínas inhiben la vía de señalización JAK/STAT [67,144,145,193]. Se ha demostrado que el aumento de la expresión de *SOCS1* en ratones *ApoE*^(-/-) disminuye la inflamación durante el inicio y la progresión de la aterosclerosis, mientras que *SOCS3* solo es eficaz en la aterosclerosis temprana [193]. Del mismo modo, se ha observado que tanto en VSMC como en macrófagos, la administración de *SOCS1/3* inhibe la expresión génica proinflamatoria, la migración y la proliferación celular. *SOCS1* y *SOCS3* inhiben la activación de STAT1 y STAT3, lo que reduce la expresión de genes dependientes de STAT como receptores de quimiocinas, moléculas de adhesión y citocinas proinflamatorias [193].

Varios estudios en CE *in vitro* han demostrado que las células senescentes son más propensas a sufrir apoptosis, hecho que contribuye en la formación del núcleo lipídico, y muestran una formación comprometida de uniones estrechas, que pueden mejorar la retención de ox-LDL en la íntima arterial y contribuir a la aterogénesis [181]. Cabe resaltar que el aumento de TP53 también aumenta la apoptosis celular, como se observa en la Tabla 3, algunos miRNA aumentan la apoptosis al regular

negativamente la traducción de los genes *HDAC1*, *SIRT1* y *CLIC4*, lo que no permite la eliminación de TP53, y contribuye al aumento de la inflamación. Aunque en el caso de la proteína CLIC4, todavía no se conoce por qué mecanismo lo lleva a cabo. Por su parte, también se ha observado que la disminución de MT1A por parte de algunos miRNA, aumenta la apoptosis en las células endoteliales al no permitir la unión de la melatonina con su receptor para mediar sus señales, debido a la disminución de su traducción, por lo que TNF- α puede promover la activación de caspasa-8 al eliminar a c-FLIP, el inhibidor endógeno de esta caspasa [181].

También los miRNA pueden producir apoptosis celular al dirigirse al mRNA del gen *XIAP*, cuya proteína es un inhibidor de la pro-caspasa 9 y 3, lo que permite la activación de la caspasa 3 que desencadena la degradación de las proteínas celulares [103]. Además, se ha observado que la pérdida de XIAP da como resultado la desregulación de la activación clásica del inflammasoma NLRP3 y la sobreproducción de citocinas proinflamatorias [103]. También la inhibición de la traducción de los genes *CCND1* y *SMAD1* por algunos miRNA, son responsables del aumento de la apoptosis de las CE, sin embargo, en las primeras etapas de la aterosclerosis evitan la proliferación y migración de las CE, ocasionada por la disfunción endotelial, por lo que, dependiendo de la etapa de la enfermedad, pueden ser beneficiosos o no [135,158].

Asimismo, TET2 está regulado negativamente por algunos miRNA, lo que provoca la disminución de la autofagia en las CE vasculares [195]. En ratones *ApoE*^(-/-) se ha observado que la autofagia se regula positivamente con la sobreexpresión de *Tet2* [195]. Cabe destacar que la deficiencia de TET2 aumenta la activación del inflammasoma NLRP3, por lo que aumenta la producción de IL-1 β e IL-18 [195,196]. TET2 está regulado a la baja en VSMC de fenotipo sintético, ya que esta proteína es un regulador epigenético de KLF4 [196], por lo que es muy probable que los miRNA que disminuyen la traducción de esta proteína, también participen en el cambio de fenotipo de las VSMC.

La autofagia es un mecanismo celular que permite la eliminación de componentes innecesarios o disfuncionales (proteínas mal plegadas, orgánulos dañados), protege a las células de la muerte celular, mantiene la función normal de las VSMC

y suprime la senescencia tras una activación moderada [179,181,193,197-199]. En condiciones de estrés como ROS, hipoxia y agregación de proteínas se ha observado que esta vía se regula al alza como un mecanismo de supervivencia celular [197,198]. La autofagia regula las respuestas inflamatorias y las vías de muerte celular, lo que influye en la patogenia de las enfermedades, incluida la aterosclerosis [199,200]. Durante la aterosclerosis se sufre un desequilibrio de esta vía, que también es regulada por algunos miRNA, lo que induce senescencia celular [197,200]. Se ha observado la participación de algunos miRNA en la disminución de la traducción del gen *ATG2B*, lo que impide la autofagia ya que codifica para una proteína necesaria para la fusión de la membrana con los lisosomas. Es importante mencionar que la autofagia ocurre tanto en macrófagos, VSMC, como en CE de placas ateroscleróticas humanas [197].

La autofagia defectuosa en los macrófagos promueve la inestabilidad de la placa a través del aumento de la apoptosis y la necrosis, mientras que en las VSMC provoca senescencia que contribuye a la formación acelerada de las placas y, en CE conduce tanto a la apoptosis como a la senescencia [179,184,198-201]. Se ha observado que la autofagia disminuye en relación con el estadio clínico de la aterosclerosis [197,201], hecho que está relacionado con el aumento de la acumulación de NUP62 (glicoproteína del poro nuclear p62) y proteínas poliubiquitinadas en los macrófagos de las placas ateroscleróticas de muestras humanas y de ratón [201]; además se ha demostrado que la expresión de NUP62 en placas ateroscleróticas murinas y en placas de las arterias carótidas humanas aumenta aún más la carga de la placa [201]. Asimismo, aunque no exista autofagia defectuosa también puede volverse insuficiente, es decir, la autofagia funcional es incapaz de hacer frente al exceso de estrés oxidativo de las placas, especialmente en lesiones avanzadas con una gran cantidad de estrés oxidativo [199,200].

Otro de los procesos clave del inicio y la progresión de la aterosclerosis es la formación y acumulación de células espumosas [179,181,202]. De hecho, es importante destacar que los macrófagos espumosos senescentes subendoteliales presentes en las lesiones tempranas mejoran la expresión de VCAM-1 mediada por TNF- α y MCP-1, para mantener el reclutamiento de monocitos en el sitio de la lesión

[179,194]. Se ha reportado que algunos miRNA aumenta la expresión indirectamente de MCP-1 y VCAM-1 [142,143], lo que incrementa la infiltración de monocitos en las placas ateroscleróticas. Por otro lado, también hay miRNA que pueden disminuir la concentración de ciertas moléculas como el factor tisular, TNF- α , IL-1 α/β , ICAM-1, PDGF y TGF- β , al regular negativamente la traducción del gen *EGR1* [148].

Diversos estudios han demostrado que las células espumosas aparecen desde las lesiones ateroscleróticas tempranas, y que están presentes durante todo el desarrollo de la aterosclerosis, teniendo diversas funciones proaterogénicas como la liberación de MMP y citocinas proinflamatorias [3,8,11,13,49,202,203]. Además, la sobrecarga de lípidos en las células espumosas desencadena la apoptosis en las placas [179]. Asimismo, diversos estudios han demostrado que la oxLDL puede activar la vía apoptótica a través de la cascada de las caspasas [179]. El citocromo c se libera en el citosol e induce la expresión del factor activador de la proteasa apoptótica 1 (APAF1) y el apoptosoma, que desencadena la cascada de apoptosis al activar a la serina proteasa caspasa 9, esta caspasa activa a las caspasa 3 y 7, que da como resultado la fragmentación del DNA [179]. La apoptosis excesiva desencadena una necrosis irreversible y a gran escala en las placas [179]

Los procesos de desregulación en las vías metabólicas de los lípidos en los macrófagos aumentan su capacidad de fagocitar ox-LDL, al inducir la expresión de receptores de captación como los SR, y disminuyen su capacidad de expulsar el colesterol [179], como es el caso de la regulación de la salida del colesterol por parte de miRNA que inhiben la traducción de los genes *ABCA1* [60,65,90,91,94,133], *ABCG1* [94], *VLDLR* [61], *PPARG* [68,116], *NR1H3* [94], *NPC1* [91], *KDM1A* [150] y *HBP1* [146], como se puede apreciar en la Tabla 3. En los macrófagos, los transportadores ABCGA1 y ABCG1 están regulados por el receptor LXR, el cual es activado por PPAR γ , lo que permite la salida de colesterol; además, LXR participa en la regulación del ambiente inflamatorio [203], como se puede observar en la siguiente figura (Figura 13).

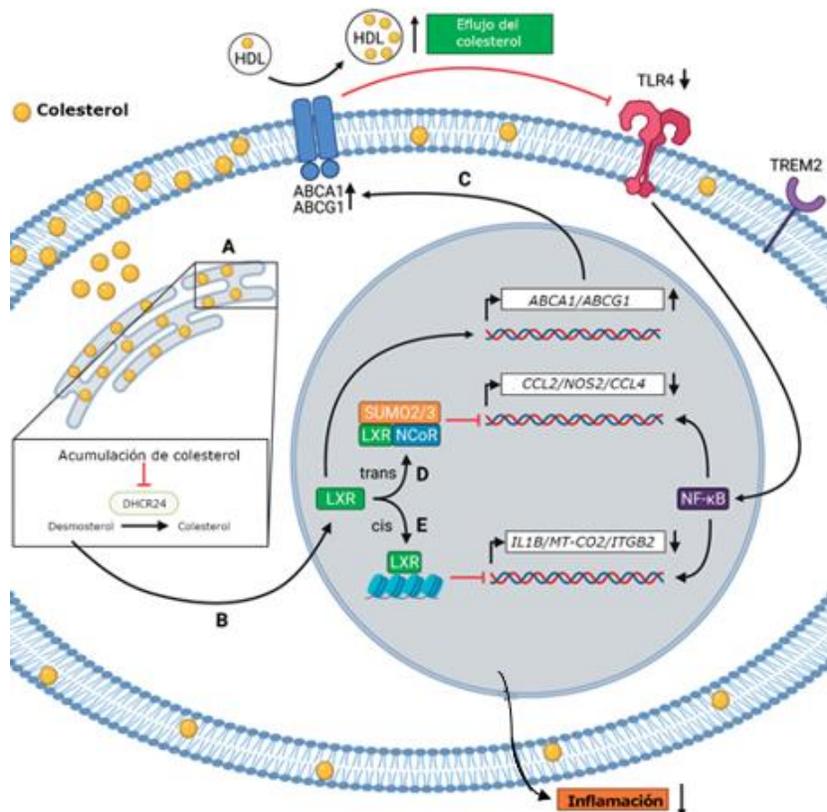


Figura 13. Mecanismo de eflujo del colesterol. (A) La acumulación de colesterol en el retículo endoplásmico inhibe la actividad enzimática de la reductasa 24 dehidrocolesterol (DHCR24), lo que lleva a la acumulación de desmosterol. (B) El desmosterol activa el factor de transcripción del receptor X hepático (LXR), (C) que regula al alza la expresión del transportador dependiente de ATP A1 y G1 (ABCA1 y ABCG1), conduciendo a la salida de colesterol. La salida de colesterol disminuye la expresión superficial del receptor tipo Toll 4 (TLR4) y la activación de NF-κB. (D) LXR en trans, forma un complejo con SUMO-2/3 y NCoR, lo que reprime la transcripción de *CCL2* (ligando 2 de quimiocina con motivo C-C), *CCL4* (ligando 4 de quimiocina con motivo C-C) y *NOS2* (óxido nítrico sintetasa 2). (E) LXR en cis conduce a la represión de *IL1B* (interleucina-1β), *MT-CO2* (citocromo c oxidasa II codificada mitocondrialmente) e *ITGB2* (integrina beta 2) a través del cierre de la cromatina. (Figura modificada de Groenen A, et. al. [203]).

El aumento de la expresión de los transportadores ABCA1 y ABCG1 por medio del aumento de la señalización sobre LXRα, se ha pensado como un posible tratamiento de la aterosclerosis, para así evitar la formación de células espumosas y la disminución de la inflamación; sin embargo, se ha observado que la utilización de agonistas para este receptor aumenta a la proteína SREBP-1c en el hígado, lo que induce a genes relacionados con la síntesis de lípidos produciendo hipertrigliceridemia, por lo que es posible que inhibir a los miRNA que se dirijan al mRNA de este receptor tengan el mismo efecto [179,203].

La salida de colesterol también es regulada por NPC1, el cual es una proteína de membrana integral que participa en la formación del endosoma/lisosoma tardío (LE/LY), acepta el colesterol de NPC2, y luego media el transporte de colesterol de LE/LY al retículo endoplásmico y a la membrana plasmática de una manera dependiente de la proteína de unión a vesículas u oxisterol (OSBP) relacionada con la proteína 5 (ORP5) [204]. Se ha observado que mutaciones en el gen *NPC1* provocan la acumulación de grandes cantidades de colesterol y otros lípidos en el LE/LY debido a un defecto en el tráfico de lípidos intracelulares [204] y, al igual que el transportador ABCA1, LXR es el responsable de regularlo positivamente.

Los miRNA que regulan negativamente la traducción de KDM1A, disminuyen la salida del colesterol en los macrófagos, ya que KDM1A regula positivamente a *SREBP1*, lo que contribuye a la potenciación de los transportadores de colesterol y el eflujo de éste, mediante los cuales los macrófagos expulsan el colesterol adicional [150]. Además, también se ha observado que algunos miRNA provocan la disminución de la proteína HBP1, lo que aumenta la producción de ROS y la captación de lípidos, ya que HBP1 es un inhibidor de MIF. Otros estudios han demostrado que MIF, cuyos niveles están regulados al alza en placas ateroscleróticas [205], promueve la aterosclerosis a través del reclutamiento de células T y monocitos de la lesión que expresan al receptor 2 de quimiocinas con motivo C-X-C (CXCR2) y al receptor CXCR4 [205]. Así mismo, se ha reportado que MIF promueve la aterogénesis en condiciones crónicas y provoca la desestabilización de la placa, como lo demuestra la delección del gen *Mif* en ratones *Ldlr^{-/-}* y el bloqueo de la proteína MIF mediado por anticuerpos en ratones *ApoE^(-/-)*, en donde se han visto disminuidos los efectos proaterogénicos, con una disminución de células inmunitarias en la íntima y la disminución de citocinas proinflamatorias [205].

En el 2009, Zerneck y colaboradores [113] reportaron que miR-126-3p puede aumentar la secreción de CXCL12 al dirigirse al mRNA de *RGS16*, lo que disminuye el tamaño de las placas ateroscleróticas. Sin embargo, recientemente se ha reportado que los niveles elevados de CXCL12 en suero contribuyen a un mayor riesgo de EVC [206], por lo que reducir los niveles de expresión de CXCL12 podría

ser una estrategia novedosa para el tratamiento de enfermedades asociadas con la aterosclerosis [206].

Además, también es importante destacar que en las placas ateroscleróticas se encuentran células espumosas derivadas de VSMC [179]. De hecho, el 40% de los macrófagos de las placas derivan de VSMC, producto de la transformación fenotípica de estas células [179]. La transformación fenotípica de las VSMC puede transformarlos en células similares a macrófagos para obtener marcadores de superficie y funciones de macrófagos [179]. En estudios *in vitro* se ha observado que bajo estímulos inflamatorios y una variedad de lípidos, como el colesterol, fosfolípidos oxidados y PDGF, las VSMC experimentan este cambio de fenotipo a células similares a macrófagos [179]. Se ha observado que estas células, aumentan el nivel de marcadores de superficie de macrófagos, incluidos CD68 y Mac-2 (Macrófago 2), mientras que los marcadores de superficie de células de músculo liso disminuyen [179]. Además, KLF4 promueve el cambio fenotípico de las VSMC a células proinflamatorias similares a macrófagos y la formación de placas [179], por lo que algunos miRNA que inhiben la traducción de KLF4 podrían evitar la adquisición de este fenotipo. Inhibir esta transformación fenotípica es beneficiosa para inhibir la cantidad de macrófagos en las placas y mantener la capa fibrosa [179]. Sin embargo, aunque las células espumosas son la principal fuente del núcleo necrótico de las placas ateroscleróticas, las terapias dirigidas a estas se encuentran en etapas tempranas debido todavía al conocimiento limitado de los mecanismos relacionados para su formación [179].

Es importante destacar que las VSMC favorecen la estabilidad de la placa, ya que son la principal fuente de producción de colágeno en la capa fibrosa y responsables de su resistencia a la tracción [183,197]. En consecuencia, la pérdida de las VSMC a través del inicio de la muerte celular tiene efectos perjudiciales, ya que conduce al adelgazamiento de la capa fibrosa, a la formación de núcleos necróticos y a la calcificación [181,197]. Las células del músculo liso pueden adoptar características de condrocitos, adipocitos, osteoblastos y células espumosas, estando las dos últimas implicadas en la aterosclerosis [197,198].

En la aterosclerosis, las VSMC parecidas a osteoblastos se caracterizan por el desarrollo de vesículas calcificantes, la regulación a la baja de las moléculas inhibitoras de la mineralización y la elaboración de una matriz propensa a la calcificación [184,197,198]. En la aterosclerosis, los microRNA están íntimamente ligados a la calcificación de las placas ateroscleróticas, debido a que tanto la inflamación crónica, la senescencia celular, la disminución de la autofagia, así como la transdiferenciación de las VSMC son los mecanismos implicados en este proceso [181,192,193]. El defecto en la autofagia en las VSMC conduce a un desequilibrio entre la liberación y la recaptación de Ca^{2+} , lo que resulta en un aumento en el Ca^{2+} basal [198].

Las microcalcificaciones en las placas ateroscleróticas comienzan por la muerte celular necrótica o apoptótica dentro del núcleo lipídico, ocasionada principalmente por la muerte de las células espumosas [13,15,197]. Este proceso se deriva de los MV liberadas por las VSMC que ya sufrieron un cambio a un fenotipo parecido a osteoblastos [197,198]. Como ya se ha mencionado anteriormente, este tipo de calcificación está relacionado con placas inestables que, cuando se rompen, ocasionan oclusión trombótica [197]. Cabe resaltar que la disfunción lisosomal provoca un aumento en la acumulación de autofagosomas, lo que aumenta la secreción de este tipo de MV que pueden agravar más la calcificación vascular [198].

En la Tabla 4, se pueden observar algunos miRNA que están implicados en la regulación positiva del fenotipo contráctil de las VSMC, por lo que son considerados ateroprotectores. Esto lo logran porque regulan negativamente a los mRNA de los genes *EVI1*, *MECP2*, *KLF4*, *KLF5* y *ELK1*, que a su vez regulan negativamente la expresión de genes contráctiles en las VSMC [79,127,130,131,136,138]. De hecho, se ha reportado la reducción del tamaño de la placa aterosclerótica, el aumento del grosor de la capa fibrosa y una disminución de VSMC con un fenotipo parecido a macrófagos en ratones *Klf4*^{-/-} [207]. Por su parte, KLF5 participa en la fosforilación del factor de transcripción NF- κ B, lo que aumenta la expresión de citocinas proinflamatorias, que contribuyen a los procesos aterogénicos en la placa [207]. Además, la activación de la vía ERK por ROS, activa ELK1 que regula al alza a

EGR1, que es un factor de transcripción aterogénico que regula las vías proliferativas y apoptóticas celulares [136]. Además, también se ha observado que la regulación a la baja de miR-542-3p en VSMC de ratas envejecidas juega un papel importante en la transformación osteogénica al dirigirse al mRNA del gen *Bmp7* (proteína morfogénica ósea 7) [184].

También otros miRNA pueden evitar la calcificación celular al inhibir la traducción de los genes *SP7* y *WNT5A*, ya que estos tienen un mayor control del desarrollo e impulsan un fenotipo osteogénico [110,120]. De hecho, se ha observado que la pérdida de SP7 da como resultado la formación de cartílago ectópico, destacando su papel en la determinación del linaje celular osteogénico [110]. WNT5A activa canónicamente a la β -catenina, que a su vez ingresa al núcleo y se une al DNA, lo cual es necesario para la activación de *RUNX2*, un gen osteogénico [120].

Algunos estudios han reportado que tanto la interleucina IL-1 β como IL-6, que son secretadas por la activación del inflamasoma, participan en los procesos de calcificación; la primera estimula la calcificación de las VSMC *in vitro* [208] y la segunda forma un complejo con el receptor soluble de interleucina 6, induciendo la transformación de las VSMC en un fenotipo parecido a osteoblastos [208], por lo que los miRNA que inhiben la traducción de los genes del inflamasoma *NLRP3* y de *HMGB1* (quien a su vez activa al inflamasoma NLRP3) [17,80], pueden ser utilizados como terapia para disminuir la calcificación y la inflamación de las placas ateroscleróticas.

Durante la aterosclerosis, las CE, VSMC y macrófagos pueden aumentar la producción de MMP, que participan en la estabilidad y ruptura de las placas ateroscleróticas [209]. En las placas estables, el núcleo necrótico está protegido de la sangre circulante de una forma característica, por una capa fibrosa, que es rica en colágenos fibrilares de tipo I, II y III, y su proteólisis desestabiliza la placa [209]. Una placa inestable tiene una capa fibrosa fina, un contenido lipídico elevado y la inflamación es alta, lo que desencadena la formación de trombos [209]. La expresión y actividad de MMP-9 aumenta en respuesta a diversas moléculas proinflamatorias dentro de las placas ateroscleróticas, tales como IL-1 β , TNF α y CD40L [210]. También, aumentan debido a la disminución de la traducción de RECK, por parte

de algunos miRNA, ya que es un inhibidor de MMP como MMP-9 lo que aumenta la inestabilidad de las placas [85]. Cabe destacar que se ha observado que miR-29b tiene una función ateroprotectora, al disminuir la traducción de MMP-2 [85], el cual aumenta ante la respuesta a ox-LDL.

Así mismo, como se observa en la Tabla 4, se ha reportado que existen miRNA que se encuentran disminuidos durante los procesos ateroscleróticos, y que al aumentarlos podrían disminuir o evitar los efectos ateroscleróticos. Por ejemplo, algunos miRNA inhiben directa o indirectamente la traducción y/o expresión de moléculas de adhesión, como VCAM-1 e ICAM-1, a través de la reducción de la traducción de los genes *VCAM1*, *GATA6*, *PODXL* y *TRIM14*, y citocinas proinflamatorias, por medio de la reducción de la traducción de los genes *Pdcd4* y *NLRP3* [56,126,153]. Además, otros miRNA que disminuyen la traducción del gen *EDN1* [106], pueden disminuir la disfunción endotelial, ya que ET1 regula positivamente la expresión de caveolina 1, que conduce a la inhibición de la actividad de eNOS y, por consiguiente, la baja biodisponibilidad de NO que ocasiona disfunción endotelial [106]. El NO promueve la relajación de la fibra muscular lisa y se considera una molécula ateroprotectora, porque contrarresta la aterogénesis y sus complicaciones [180], por lo que la utilización de miméticos de estos miRNA, podría ser una terapia novedosa para el tratamiento de la aterosclerosis.

Hasta la fecha no se han reportado estudios en fase clínica en humanos del uso de miméticos de microRNA u oligonucleótidos antisentido de miRNA, como tratamiento de la aterosclerosis o sus complicaciones; solo existen datos en modelos *in vitro* en células humanas e *in vivo* en animales, en donde se demuestra que el tratamiento con estos puede disminuir el tamaño de las placas, la inflamación, la formación de células espumosas, la senescencia en las CE, la proliferación en las VSMC y la migración de las VSMC [56,92,95,97,107,118,130,144]. Por ejemplo, se ha reportado que en ratones *ApoE^{-/-}* la administración de oligonucleótidos antisentido de miR-1 atenúa la inflamación y la aterogénesis [53], de miR-29b disminuye la permeabilidad endotelial y la apoptosis [86], de miR-17-5p disminuye la producción de citocinas proinflamatorias [60,61], y el uso de miméticos de miR-10a disminuye la infiltración de células inflamatorias y la formación de placas [64], de miR-141-3p

disminuye los niveles de LDL y aumentan los de HDL en sangre [120], y de miR-145 limita la carga de las placas, reduce la inflamación y aumenta la estabilidad de la placa [137], por lo que el uso de oligonucleótidos antisentido de los miRNA que se encuentran en la Tabla 3 y que se consideran proaterogénicos, y el uso de miméticos de miRNA que se encuentran en la Tabla 4 que se consideran ateroprotectores, serían posibles blancos terapéuticos para el tratamiento de la aterosclerosis. Sin embargo, cabe aclarar que el uso de miRNA como terapia para la aterosclerosis, necesita de más estudios, esto debido a que los miRNA no solo tienen un blanco, sino pueden tener hasta cientos, por lo que se necesitaría un mayor entendimiento para así evitar posibles efectos secundarios.

Es muy importante el estudio de biomarcadores circulantes para detectar de manera no invasiva las placas inestables, prediciendo así los riesgos que trae consigo una aterosclerosis avanzada [211-213]. Actualmente no existen biomarcadores confiables que sean implementados clínicamente para diagnosticar una placa aterosclerótica vulnerable [211-213]. Sin embargo, varios estudios destacan el uso potencial de las EV y microRNA como biomarcadores para controlar la progresión de la aterosclerosis [160-177,211-213], debido a que la composición de las EV varía en sujetos sanos comparada con pacientes con enfermedad aterosclerótica. Los autores recalcan que se requieren más estudios clínicos en cohortes independientes para obtener conclusiones definitivas, y así definir biomarcadores sensibles, precisos y específicos. Sin embargo, al menos existen miRNA candidatos que podrían ser utilizados como posibles biomarcadores, como es el caso de miR-21, miR-133a y miR-144, que se encuentran aumentados en pacientes con EAC [171,211-213].

Además, son importantes los estudios de las EV y microRNA para el diagnóstico temprano de aterosclerosis, debido a que, como ya se ha mencionado anteriormente, las primeras etapas de esta enfermedad son asintomáticas, y así se podría prevenir la progresión de la aterosclerosis a eventos clínicos más severos [3,4].

10. Conclusiones

- Diversos estudios han reportado la presencia de EV en placas ateroscleróticas, han caracterizado sus funciones biológicas, y determinado que las moléculas que contienen modulan los procesos de inflamación, senescencia celular, apoptosis celular y calcificación, contribuyendo así al desarrollo de la aterosclerosis.
- Los microRNA contenidos dentro de las vesículas extracelulares participan en la regulación de la expresión de genes implicados en el desarrollo de la aterosclerosis.
- La mayoría de los miRNA que se encuentran aumentados durante la aterosclerosis participan en el desarrollo de las placas ateroscleróticas, debido a que ayudan a la formación de células espumosas (miR-17-5p, miR-33a/b), en la adquisición de la senescencia y al aumento de la apoptosis celular (miR-19b-3p, miR-34a), en la disminución de la autofagia (miR-122, miR-130a) y en el aumento de la producción de citocinas proinflamatorias y quimiocinas (miR-29b, miR-410). En cambio, los miRNA que se encuentran disminuidos participan en procesos que regulan a la baja los procesos ateroscleróticos (miR-22, miR-145), por lo que son considerados ateroprotectores.
- Los miRNA también participan en la calcificación coronaria, al aumentar la proliferación y migración de las VSMC, haciéndolas más proclives a desarrollar un fenotipo osteogénico, como con el incremento de miR-19b.
- Las EV como MV o exosomas podrían ser utilizadas como biomarcadores, ya que se encuentran aumentadas en sangre periférica de pacientes con enfermedades cardiovasculares, y se ha observado que existe correlación entre su aumento y la progresión de las placas ateroscleróticas.
- Los miRNA como miR-17-5p, miR-21 y miR-122, podrían ser utilizados como biomarcadores ya que se encuentran aumentados en el suero de pacientes con enfermedad arterial coronaria; sin embargo, son necesarios más estudios para relacionarlos con la gravedad de la enfermedad.

- Los microRNA pueden ser utilizados como blancos terapéuticos, debido a que regulan la expresión de genes involucrados en el progreso de la aterosclerosis; en el futuro se podrían generar terapias de inhibición o aumento de expresión de algunos de ellos como tratamiento para esta enfermedad. Por ejemplo, utilizando miméticos de algunos miRNA que se encuentran disminuidos en pacientes con aterosclerosis como miR-1914-5p, se disminuiría la inflamación e infiltración de células inflamatorias en las placas, o utilizando oligonucleótidos antisentido de miRNA aumentados como anti-miR-34a, lo que podría disminuir la senescencia celular y la formación de células espumosas.

11. Referencias

- [1] Roth GA, Johnson C, Abajobir A, et al. Global, regional, and national burden of cardiovascular diseases for 10 causes, 1990 to 2015. *Journal of the American College of Cardiology*. 2017;70(1):1-25. doi:10.1016/j.jacc.2017.04.052
- [2] Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Características de las defunciones registradas en México durante 2020. México, 2021. Recuperado de: https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2021/EstSociodemo/DefuncionesRegistradas2020_Pre_07.pdf
- [3] Kobiyama K, Ley K. Atherosclerosis. *Circulation Research*. 2018;123(10):1118-1120. doi:10.1161/circresaha.118.313816
- [4] Lechner K, von Schacky C, McKenzie AL, et al. Lifestyle factors and high-risk atherosclerosis: Pathways and mechanisms beyond traditional risk factors. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2019;27(4):394-406. doi:10.1177/2047487319869400
- [5] Wang D, Xu X, Zhao M, Wang X. Accelerated miniature swine models of advanced atherosclerosis: A review based on morphology. *Cardiovascular Pathology*. 2020;49:107241. doi:10.1016/j.carpath.2020.107241
- [6] Stary H, Chandler A, Dinsmore R, et al. A Definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1995;15(9):1512-1531. doi:10.1161/01.atv.15.9.1512
- [7] Liberale L, Carbone F, Montecucco F, Sahebkar A. Statins reduce vascular inflammation in atherogenesis: A review of underlying molecular mechanisms. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2020;122(2):1057-1063. doi:10.1016/j.biocel.2020.105735
- [8] Virmani R, Kolodgie F, Burke A, Farb A, Schwartz S. Lessons from sudden coronary death. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2000;20(5):1262-1275. doi:10.1161/01.atv.20.5.1262
- [9] Charla E, Mercer J, Maffia P, Nicklin SA. Extracellular vesicle signalling in atherosclerosis. *Cellular Signalling*. 2020;75(1):10751-10763. doi:10.1016/j.cellsig.2020.109751

- [10] Virchow R. As based upon physiological and pathological histology. *Nutrition Reviews*. 2009;47(1):23-25. doi:10.1111/j.1753-4887.1989.tb02747.x
- [11] Christ A, Bekkering S, Latz E, Rixsen N. Long-term activation of the innate immune system in atherosclerosis. *Seminars in Immunology*. 2016;28(4):384-393. doi:10.1016/j.smim.2016.04.004
- [12] Hovland A, Jonasson L, Garred P, et al. The complement system and toll-like receptors as integrated players in the pathophysiology of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2015;241(2):480-494. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.05.038
- [13] Jebari S, GaliciaU, Larrea A, Olaetxea JR, Alloza I, Vandebroeck K, Benito A, Martín C. Pathophysiology of atherosclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(6):3346. doi: 10.3390/ijms23063346.
- [14] Miteva K, Madonna R, De Caterina R, Van Linthout S. Innate and adaptive immunity in atherosclerosis. *Vascular Pharmacology*. 2018;107(2):67-77. doi:10.1016/j.vph.2018.04.006
- [15] Björkegren J, Lusis A. Atherosclerosis: Recent developments. *Cell*. 2022;185(10):1630-1645. doi:10.1016/j.cell.2022.04.004
- [16] Keeter W, Ma S, Stahr N, Moriarty A, Galkina E. Atherosclerosis and multi-organ-associated pathologies. *Seminars in Immunopathology*. 2022;44(3):363-374. doi:10.1007/s00281-022-00914-y
- [17] Lu N, Cheng W, Liu D, et al. NLRP3-Mediated Inflammation in Atherosclerosis and Associated Therapeutics. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2022;10. doi:10.3389/fcell.2022.823387
- [18] Spillmann F, De Geest B, Muthuramu I, et al. Apolipoprotein A-I gene transfer exerts immunomodulatory effects and reduces vascular inflammation and fibrosis in ob/ob mice. *Journal of Inflammation*. 2016;13(1). doi:10.1186/s12950-016-0131-6
- [19] Ridker PM, Luscher TF. Anti-inflammatory therapies for cardiovascular disease. *European Heart Journal*. 2014;35(27):1782-1791. doi:10.1093/eurheartj/ehu203
- [20] Kelley N, Jeltema D, Duan Y, He Y. The NLRP3 inflammasome: an overview of mechanisms of activation and regulation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(13):3328. doi:10.3390/ijms20133328

- [21] Miano JM, Fisher EA, Majesky MW. Fate and state of vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. *Circulation*. 2021;143(21):2110-2116. doi:10.1161/circulationaha.120.049922
- [22] Zhao T, Mallat Z. Targeting the immune system in atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2019;73(13):1691-1706. doi:10.1016/j.jacc.2018.12.083
- [23] Nording H, Seizer P, Langer H. Platelets in inflammation and atherogenesis. *Frontiers in Immunology*. 2015;6(1):98-110 doi:10.3389/fimmu.2015.00098
- [24] Yin M, Loyer X, Boulanger CM. Extracellular vesicles as new pharmacological targets to treat atherosclerosis. *European Journal of Pharmacology*. 2015;763:90-103. doi:10.1016/j.ejphar.2015.06.047
- [25] Hafiane A, Daskalopoulou S. Extracellular vesicles characteristics and emerging roles in atherosclerotic cardiovascular disease. *Metabolism*. 2018;85(1):213-222. doi:10.1016/j.metabol.2018.04.008
- [26] Shao H, Im H, Castro CM, Breakefield X, Weissleder R, Lee H. New technologies for analysis of extracellular vesicles. *Chemical Reviews*. 2018;118(4):1917-1950. doi:10.1021/acs.chemrev.7b00534
- [27] Lötvall J, Hill A, Hochberg F, et al. Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: a position statement from the International Society for Extracellular Vesicles. *Journal of Extracellular Vesicles*. 2014;3(1):26913-26924. doi:10.3402/jev.v3.26913
- [28] Deng W, Tang T, Hou Y, et al. Extracellular vesicles in atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta*. 2019;495(2):109-117. doi:10.1016/j.cca.2019.04.051
- [29] Perdikopanis N, Georgakilas G, Grigoriadis D, et. al. DIANA-miRGen v:4 indexing promoters and regulators for more than 1500 microRNAs. *Nucleic Acids Research*. 2021;49(1):151-159. doi:10.1093/nar/gkaa1060.
- [30] Gebert LFR, MacRae IJ. Regulation of microRNA function in animals. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2018;20(1):21-37. doi:10.1038/s41580-018-0045-7
- [31] Rani V, Sengar RS. Biogenesis and mechanisms of microRNA-mediated gene regulation. *Biotechnology and bioengineering*. 2022;119(3):685-692. doi:10.1002/bit.28029

- [32] Alkan A, Akgül B. Endogenous miRNA Sponges. *Methods in Molecular Biology*. 2022;2257:91-104. doi:10.1007/978-1-0716-1170-8_5
- [33] Kozomara A, Birgaoanu M, Griffiths-Jones S. miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Research*. 2018;47(1):155-162. doi:10.1093/nar/gky1141
- [34] Desvignes T, Batzel P, Berezikov E, et al. miRNA nomenclature: a view incorporating genetic origins, biosynthetic pathways, and sequence variants. *Trends in Genetics*. 2015;31(11):613-626. doi:10.1016/j.tig.2015.09.002
- [35] Salim U, Kumar A, Kulshreshtha R, Vivekanandan P. Biogenesis, characterization, and functions of mirtrons. *Wiley Interdisciplinary Reviews RNA*. 2022;13(1):1680. doi:10.1002/wrna.1680
- [36] Yang W, Zou B, Hou Y, Yan W, Chen T, Qu S. Extracellular vesicles in vascular calcification. *Clinica Chimica Acta*. 2019;499(1):118-122. doi:10.1016/j.cca.2019.09.002
- [37] Pashova A, Work LM, Nicklin SA. The role of extracellular vesicles in neointima formation post vascular injury. *Cellular Signalling*. 2020;76(1):109783-109790. doi:10.1016/j.cellsig.2020.109783
- [38] Zhang Y, Hu Y-W, Zheng L, Wang Q. Characteristics and roles of exosomes in cardiovascular disease. *DNA and Cell Biology*. 2017;36(3):202-211. doi:10.1089/dna.2016.3496
- [39] Tsiantoulas D, Perkmann T, Afonyushkin T, et al. Circulating microparticles carry oxidation-specific epitopes and are recognized by natural IgM antibodies. *Journal of Lipid Research*. 2015;56(2):440-448. doi:10.1194/jlr.p054569
- [40] Boulanger CM, Loyer X, Rautou P-E, Amabile N. Extracellular vesicles in coronary artery disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2017;14(5):259-272. doi:10.1038/nrcardio.2017.7
- [41] Jansen F, Li Q, Pfeifer A, Werner N. Endothelial and Immune cell-derived extracellular vesicles in the regulation of cardiovascular health and disease. *JACC: Basic to Translational Science*. 2017;2(6):790-807. doi:10.1016/j.jacbts.2017.08.004

- [42] Perrotta I, Aquila S. Exosomes in human atherosclerosis: An ultrastructural analysis study. *Ultrastructural Pathology*. 2016;40(2):101-106. doi:10.3109/01913123.2016.1154912
- [43] Arraud N, Linares R, Tan S, et al. Extracellular vesicles from blood plasma: determination of their morphology, size, phenotype and concentration. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2014;12(5):614-627. doi:10.1111/jth.12554
- [44] Bakhshian Nik A, Hutcheson J, Aikawa E. Extracellular vesicles as mediators of cardiovascular calcification. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2017;4(1):78-87 doi:10.3389/fcvm.2017.00078
- [45] Goettsch C, Hutcheson J, Aikawa M, et al. Sortilin mediates vascular calcification via its recruitment into extracellular vesicles. *Journal of Clinical Investigation*. 2016;126(4):1323-1336. doi:10.1172/jci80851
- [46] Bjørklund G, Svanberg E, Dadar M, et al. The role of matrix Gla protein (MGP) in vascular calcification. *Current Medicinal Chemistry*. 2020;27(10):1647-1660. doi:10.2174/0929867325666180716104159
- [47] Lu Y, Thavarajah T, Gu W, Cai J, Xu Q. Impact of miRNA in atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2018;38(9):159-170 doi:10.1161/atvbaha.118.310227
- [48] Jiang Y, Manduchi E, Jiménez J, Davies P. Endothelial epigenetics in biomechanical stress. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2015;35(6):1317-1326. doi:10.1161/atvbaha.115.303427
- [49] Candela J, Wang R, White C. Microvascular endothelial dysfunction in obesity is driven by macrophage-dependent hydrogen sulfide depletion. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2017;37(5):889-899. doi:10.1161/atvbaha.117.309138
- [50] Leeper NJ, Maegdefessel L. Non-coding RNAs: key regulators of smooth muscle cell fate in vascular disease. *Cardiovascular Research*. 2017;114(4):611-621. doi:10.1093/cvr/cvx249
- [51] Bennett MR, Sinha S, Owens GK. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. *Circulation Research*. 2016;118(4):692-702. doi:10.1161/circresaha.115.306361

- [52] Xie C, Huang H, Sun X, et al. microRNA-1 regulates smooth muscle cell differentiation by repressing Kruppel-like factor 4. *Stem Cells and Development*. 2011;20(2):205-210. doi:10.1089/scd.2010.0283
- [53] Zhu H, Wang F, Dong L, Zhou Q, Wang Y. MicroRNA-1 modulates oxLDL-induced hyperlipidemia by down-regulating MLCK and ERK/p38 MAPK pathway. *Life Sciences*. 2014;107(2):21-26. doi:10.1016/j.lfs.2014.04.028
- [54] Hammouda M, Ford A, Liu Y, Zhang J. The JNK signaling pathway in inflammatory skin disorders and cancer. *Cells*. 2020;9(4):857. doi:10.3390/cells9040857
- [55] Jiang F, Chen Q, Wang W, Ling Y, Yan Y, Xia P. Hepatocyte-derived extracellular vesicles promote endothelial inflammation and atherogenesis via microRNA-1. *Journal of Hepatology*. 2020;72(1):156-166. doi:10.1016/j.jhep.2019.09.014
- [56] Fang Y, Shi C, Manduchi E, Civelek M, Davies P. microRNA-10a regulation of proinflammatory phenotype in athero-susceptible endothelium in vivo and in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(30):13450-13455. doi:10.1073/pnas.1002120107
- [57] Lee D, Lin T, Lee C, et al. microRNA-10a is crucial for endothelial response to different flow patterns via interaction of retinoid acid receptors and histone deacetylases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017;114(8):2072-2077. doi:10.1073/pnas.1621425114
- [58] Lee D, Yang T, Huang Y, et al. Induction of microRNA-10a using retinoic acid receptor- α and retinoid x receptor- α agonists inhibits atherosclerotic lesion formation. *Atherosclerosis*. 2018;271(45):36-44. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2018.02.010
- [59] Wang H, He F, Liang B, et al. p53-dependent lincRNA-p21 protects against proliferation and anti-apoptosis of vascular smooth muscle cells in atherosclerosis by upregulating SIRT7 via microRNA-17-5p. *Journal of Cardiovascular Translational Research*. 2021;14(3):426-440. doi:10.1007/s12265-020-10074-9
- [60] Tan L, Liu L, Jiang Z, Hao X. Inhibition of microRNA-17-5p reduces the inflammation and lipid accumulation, and up-regulates ATP-binding cassette

transporterA1 in atherosclerosis. *Journal of Pharmacological Sciences*. 2019;139(4):280-288. doi:10.1016/j.jphs.2018.11.012

[61] Tan L, Meng L, Shi X, Yu B. Knockdown of microRNA-17-5p ameliorates atherosclerotic lesions in ApoE^{-/-} mice and restores the expression of very low density lipoprotein receptor. *Biotechnol Letters*. 2017;39(7):967-976. doi:10.1007/s10529-017-2337-y

[62] Go G, Mani A. Low-density lipoprotein receptor (LDLR) family orchestrates cholesterol homeostasis. *The Yale Journal of Biology and Medicine*. 2012;85(1):19-28. Recuperado de: <https://pubmed-ncbi-nlm-nih.gov/pbidi.unam.mx:2443/22461740/>

[63] Shen X, Zhang S, Guo Z, Xing D, Chen W. The crosstalk of ABCA1 and ANXA1: a potential mechanism for protection against atherosclerosis. *Molecular Medicine*. 2020;26(1):375-390 doi:10.1186/s10020-020-00213-y

[64] Li C, Li S, Zhang F, et al. Endothelial microparticles-mediated transfer of microRNA-19b promotes atherosclerosis via activating perivascular adipose tissue inflammation in apoE^{-/-} mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2018;495(2):1922-1929. doi:10.1016/j.bbrc.2017.11.195

[65] Lv Y, Tang Y, Peng J, et al. microRNA-19b promotes macrophage cholesterol accumulation and aortic atherosclerosis by targeting ATP-binding cassette transporter A1. *Atherosclerosis*. 2014;236(1):215-226. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2014.07.005

[66] Xue Y, Wei Z, Ding H, et al. microRNA-19b/221/222 induces endothelial cell dysfunction via suppression of PGC-1 α in the progression of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2015;241(2):671-681. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.06.031

[67] Cheng X, Zhang X, Su J, et al. miR-19b downregulates intestinal SOCS3 to reduce intestinal inflammation in Crohn's disease. *Scientific Reports*. 2015;5(1):103-115. doi:10.1038/srep10397 .

[68] Wang J, Xu X, Li P, Zhang B, Zhang J. HDAC3 protects against atherosclerosis through inhibition of inflammation via the microRNA-19b/PPAR γ /NF- κ B axis. *Atherosclerosis*. 2021;323(1):1-12. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2021.02.013

- [69] Gao Q, Wei A, Chen F, et al. Enhancing PPAR γ by HDAC inhibition reduces foam cell formation and atherosclerosis in ApoE deficient mice. *Pharmacological Research*. 2020;160(2):105-129. doi:10.1016/j.phrs.2020.105059
- [70] Tsai P-C, Liao Y-C, Wang Y-S, Lin H-F, Lin R-T, Juo S-HH. Serum microRNA-21 and microRNA-221 as potential biomarkers for cerebrovascular disease. *Journal of Vascular Research*. 2013;50(4):346-354. doi:10.1159/000351767
- [71] Darabi F, Aghaei M, Movahedian A, Elahifar A, Pourmoghadas A, Sarrafzadegan N. Association of serum microRNA-21 levels with Visfatin, inflammation, and acute coronary syndromes. *Heart and Vessels*. 2016;32(5):549-557. doi:10.1007/s00380-016-0913-z
- [72] Weber M, Baker M, Moore JP, Searles CD. MiR-21 is induced in endothelial cells by shear stress and modulates apoptosis and eNOS activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2010;393(4):643-648. doi:10.1016/j.bbrc.2010.02.045
- [73] Barnett R, Conklin D, Ryan L, et al. Anti-inflammatory effects of miR-21 in the macrophage response to peritonitis. *Journal of Leukocyte Biology*. 2015;99(2):361-371. doi:10.1189/jlb.4a1014-489r
- [74] Caescu C, Guo X, Tesfa L, et al. Colony stimulating factor-1 receptor signaling networks inhibit mouse macrophage inflammatory responses by induction of microRNA-21. *Blood*. 2015;125(8):1-13. doi:10.1182/blood-2014-10-608000
- [75] Fan X, Wang E, Wang X, Cong X, Chen X. microRNA-21 is a unique signature associated with coronary plaque instability in humans by regulating matrix metalloproteinase-9 via reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs. *Experimental and Molecular Pathology*. 2014;96(2):242-249. doi:10.1016/j.yexmp.2014.02.009
- [76] Gao L, Zeng H, Zhang T, et al. microRNA-21 deficiency attenuated atherogenesis and decreased macrophage infiltration by targeting Dusp-8. *Atherosclerosis*. 2019;291(1):78-86. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2019.10.003
- [77] Liu S, Li W, Xu M, Huang H, Wang J, Chen X. microRNA-21 targets dual specific phosphatase 8 to promote collagen synthesis in high glucose-treated primary cardiac fibroblasts. *Canadian Journal of Cardiology*. 2014;30(12):1689-1699. doi:10.1016/j.cjca.2014.07.747

- [78] Chen B, Luo L, Zhu W, Wei X, Li S, Huang Y, Liu M, Lin X: miR-22 contributes to the pathogenesis of patients with coronary artery disease by targeting MCP-1: An observational study. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(33):4418-4429. doi: 10.1097/MD.0000000000004418.
- [79] Yang F, Chen Q, He S, et al. miR-22 is a novel mediator of vascular smooth Muscle Cell Phenotypic Modulation and Neointima Formation. *Circulation*. 2018;137(17):1824-1841. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.027799
- [80] Huang SC, Wang M, Wu W, et al. miR-22-3p inhibits arterial smooth muscle cell proliferation and migration and neointimal hyperplasia by targeting HMGB1 in arteriosclerosis obliterans. *Cellular Physiology Biochemistry*. 2017;42(6):2492-2506. doi:10.1159/000480212
- [81] Wang X, Chi J, Dong B, et al. miR-223-3p and miR-22-3p inhibit monosodium urate-induced gouty inflammation by targeting NLRP3. *International Journal of Rheumatic Diseases*. 2021;24(4):599-607. doi:10.1111/1756-185x.14089
- [82] Hinai A, Valk P. Review: Aberrant EVI1 expression in acute myeloid leukaemia. *British Journal of Haematology*. 2016;172(6):870-878. doi:10.1111/bjh.13898
- [83] Huang Y, Li J, Chen J, et al. The Association of circulating miR-29b and interleukin-6 with subclinical atherosclerosis. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2017;44(4):1537-1544. doi:10.1159/000485649
- [84] Lu Z, Wang F, Yu P, et al. Inhibition of miR-29b suppresses MAPK signaling pathway through targeting SPRY1 in atherosclerosis. *Vascular Pharmacology*. 2018;102(1):29-36. doi:10.1016/j.vph.2018.01.006
- [85] Shen L, Song Y, Fu Y, Li P. miR-29b mimics promotes cell apoptosis of smooth muscle cells via targeting on MMP-2. *Cytotechnology*. 2017;70(1):351-359. doi:10.1007/s10616-017-0150-z
- [86] Zhu H, li Q, Dong L, Zhou Q, Wang H, Wang Y. microRNA-29b promotes high-fat diet-stimulated endothelial permeability and apoptosis in apoE knock-out mice by down-regulating MT1 expression. *International Journal of Cardiology*. 2014;176(3):764-770. doi:10.1016/j.ijcard.2014.07.095
- [87] Fernandez Machulsky N, Gagliardi J, Fabre B, et al. Matrix metalloproteinases and psychosocial factors in acute coronary syndrome

- patients. *Psychoneuroendocrinology*. 2016;63(1):102-108.
doi:10.1016/j.psyneuen.2015.09.015
- [88] Marquart T, Wu J, Lusis A, Baldán Á. Anti-miR-33 Therapy Does Not Alter the Progression of Atherosclerosis in Low-Density Lipoprotein Receptor-Deficient Mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2013;33(3):455-458.
doi:10.1161/atvbaha.112.300639
- [89] Ouimet M, Ediriweera H, Gundra U, et al. microRNA-33–dependent regulation of macrophage metabolism directs immune cell polarization in atherosclerosis. *Journal of Clinical Investigation*. 2015;125(12):4334-4348.
doi:10.1172/jci81676
- [90] Karunakaran D, Rayner KJ. Macrophage miRNAs in atherosclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2016;1861(12):2087-2093. doi:10.1016/j.bbalip.2016.02.006
- [91] Price N, Rotllan N, Canfrán A, et al. Genetic Dissection of the impact of miR-33a and miR-33b during the progression of atherosclerosis. *Cell Reports*. 2017;21(5):1317-1330. doi:10.1016/j.celrep.2017.10.023
- [92] Allen R, Marquart T, Jesse J, Baldán Á. Control of very low-density lipoprotein secretion by N-ethylmaleimide-sensitive factor and miR-33. *Circulation Research*. 2014;115(1):10-22. doi:10.1161/circresaha.115.303100
- [93] Goedeke L, Salerno A, Ramírez C, et al. Long-term therapeutic silencing of miR-33 increases circulating triglyceride levels and hepatic lipid accumulation in mice. *EMBO Molecular Medicine*. 2014;6(9):1133-1141.
doi:10.15252/emmm.201404046
- [94] Xu Y, Xu Y, Zhu Y, et al. Macrophage miR-34a Is a Key Regulator of Cholesterol Efflux and Atherosclerosis. *Molecular Therapy*. 2020;28(1):202-216.
doi:10.1016/j.ymthe.2019.09.008
- [95] Li Y, Zhang K, Mao W. Inhibition of miR-34a prevents endothelial cell apoptosis by directly targeting HDAC1 in the setting of atherosclerosis. *Molecular Medicine Reports*. 2018;17(3):4645-4650. doi:10.3892/mmr.2018.8411
- [96] Reichert N, Choukrallah M-A, Matthias P. Multiple roles of class I HDACs in proliferation, differentiation, and development. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2012;69(13):2173-2187. doi:10.1007/s00018-012-0921-9

- [97] Badi I, Mancinelli L, Polizzotto A, et al. miR-34a Promotes vascular smooth muscle cell calcification by downregulating SIRT1 (Sirtuin 1) and Axl (AXL receptor tyrosine kinase). *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2018;38(9):2079-2090. doi:10.1161/atvbaha.118.311298
- [98] Badi I, Burba I, Ruggeri C, et al. microRNA-34a induces vascular smooth muscle cells senescence by SIRT1 downregulation and promotes the expression of age-associated pro-inflammatory secretory factors. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. 2014;70(11):1304-1311. doi:10.1093/gerona/glu180
- [99] Gao W, He H, Wang Z, et al. Plasma levels of lipometabolism-related miR-122 and miR-370 are increased in patients with hyperlipidemia and associated with coronary artery disease. *Lipids in Health and Disease*. 2012;11(1):55-62. doi:10.1186/1476-511x-11-55
- [100] Andersson P, Gidlöf O, Braun OÖ, et al. Plasma levels of liver-specific miR-122 Is massively increased in a porcine cardiogenic shock model and attenuated by hypothermia. *Shock*. 2012;37(2):234-238. doi:10.1097/shk.0b013e31823f1811
- [101] Wang Y, Yu W. Association of circulating microRNA-122 with presence and severity of atherosclerotic lesions. *Peer Journal*. 2018;6 (1):5218-5225. doi:10.7717/peerj.5218
- [102] Song J, Yang M, Liu Y, et al. microRNA-122 aggravates angiotensin II-mediated apoptosis and autophagy imbalance in rat aortic adventitial fibroblasts via the modulation of SIRT6-elabela-ACE2 signaling. *European Journal of Pharmacology*. 2020;883(1):173-182. doi:10.1016/j.ejphar.2020.173374
- [103] Li Y, Yang N, Dong B, Yang J, Kou L, Qin Q. microRNA-122 promotes endothelial cell apoptosis by targeting XIAP: Therapeutic implication for atherosclerosis. *Life Sciences*. 2019;232(13):116-130. doi:10.1016/j.lfs.2019.116590
- [104] Zhaolin Z, Jiaojiao C, Peng W, et al. OxLDL induces vascular endothelial cell pyroptosis through miR-125a-5p/TET2 pathway. *Journal of Cellular Physiology*. 2018;234(5):7475-7491. doi:10.1002/jcp.27509

- [105] Wu X, Zhang H, Qi W, et al. Nicotine promotes atherosclerosis via ROS-NLRP3-mediated endothelial cell pyroptosis. *Cell Death & Disease*. 2018;9(2):171-182. doi:10.1038/s41419-017-0257-3
- [106] Hao L, Wang X, Cheng J, et al. The up-regulation of endothelin-1 and down-regulation of miRNA-125a-5p, -155, and -199a/b-3p in human atherosclerotic coronary artery. *Cardiovascular Pathology*. 2014;23(4):217-223. doi:10.1016/j.carpath.2014.03.009
- [107] Hu W, Chang G, Zhang M, et al. microRNA-125a-3p affects smooth muscle cell function in vascular stenosis. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2019;136(2):85-94. doi:10.1016/j.yjmcc.2019.08.014
- [108] Sun Y, Liu W-Z, Liu T, Feng X, Yang N, Zhou H-F. Signaling pathway of MAPK/ERK in cell proliferation, differentiation, migration, senescence and apoptosis. *Journal of Receptors and Signal Transduction*. 2015;35(6):600-604. doi:10.3109/10799893.2015.1030412
- [109] Li X, Yao N, Zhang J, Liu Z. microRNA-125b is involved in atherosclerosis obliterans in vitro by targeting podocalyxin. *Molecular Medicine Reports*. 2012;12(1):561-568. doi:10.3892/mmr.2015.3384 1.
- [110] Chen S, Yang L, Jie Q, et al. microRNA-125b suppresses the proliferation and osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Molecular Medicine Reports*. 2014;9(5):1820-1826. doi:10.3892/mmr.2014.2024
- [111] Bronze E. microRNAs expression profiles in cardiovascular diseases. *BioMed Research International*. 2014;201(4):1-23. doi:10.1155/2014/985408
- [112] Schober A, Nazari M, Wei Y, et al. microRNA-126-5p promotes endothelial proliferation and limits atherosclerosis by suppressing Dlk1. *Nature Medicine*. 2014;20(4):368-376. doi:10.1038/nm.3487
- [113] Zernecke A, Bidzhekov K, Noels H, et al. Delivery of microRNA-126 by apoptotic bodies induces CXCL12-dependent vascular protection. *Science Signaling*. 2009;2(100):81-88. doi:10.1126/scisignal.2000610
- [114] Noels H, Zhou B, Tilstam PV, et al. Deficiency of endothelial Cxcr4 reduces reendothelialization and enhances neointimal hyperplasia after vascular injury in atherosclerosis-prone mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2014;34(6):1209-1220. doi:10.1161/atvbaha.113.302878

- [115] Harris TA, Yamakuchi M, Ferlito M, Mendell J, Lowenstein C. microRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105(5):1516-1521. doi:10.1073/pnas.0707493105
- [116] Liu F, Liu Y, Du Y, Li Y. miRNA-130a promotes inflammation to accelerate atherosclerosis via the regulation of proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) expression. *The Anatolian Journal of Cardiology*. 2021;25(9):630-637. doi:10.5152/anatoljcardiol.2021.56721
- [117] Li T, Cao H, Zhuang J, et al. Identification of miR-130a, miR-27b and miR-210 as serum biomarkers for atherosclerosis obliterans. *Clinica Chimica Acta*. 2011;412(2):66-70. doi:10.1016/j.cca.2010.09.029
- [118] Zheng L, Wang Z, Li Z, Wang M, Wang W, Chang G. microRNA-130a inhibits proliferation of vascular smooth muscle cells by suppressing autophagy via ATG2B. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2021;25(8):3829-3839. doi:10.1111/jcmm.16305
- [119] Fan A, Wang Q, Yuan Y, et al. Liver X receptor- α and miR-130a-3p regulate expression of sphingosine 1-phosphate receptor 2 in human umbilical vein endothelial cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2016;310(3):216-226. doi:10.1152/ajpcell.00102.2015
- [120] Zhang F, Sun P, Yuan N. miR-141-3p reduces cell migration and proliferation in an in vitro model of atherosclerosis by targeting Wnt5a. *Journal of Investigative Surgery*. 2021;5(1):1-7. doi:10.1080/08941939.2021.1904467
- [121] Zhang C, Kong X, Ma D. miR-141-3p inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and migration via regulating Keap1/Nrf2/HO-1 pathway. *IUBMB Life*. 2020;72(10):2167-2179. doi:10.1002/iub.2374
- [122] Li Y, Li H, Chen B, Yang F, Hao Z. miR-141-5p suppresses vascular smooth muscle cell inflammation, proliferation, and migration via inhibiting the HMGB1/NF- κ B pathway. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2021;35(8):22828-22838. doi:10.1002/jbt.22828
- [123] Bhatt P. Increased Wnt5a mRNA expression in advanced atherosclerotic lesions, and oxidized LDL treated human monocyte-derived macrophages. *The*

- Open Circulation and Vascular Journal.* 2012;5(1):1-7.
doi:10.2174/1877382601205010001
- [124] Bradley EW, Drissi MH. WNT5A Regulates Chondrocyte Differentiation through Differential Use of the CaN/NFAT and IKK/NF- κ B Pathways. *Molecular Endocrinology.* 2010;24(8):1581-1593. doi:10.1210/me.2010-0037
- [125] Chang SH, Mori D, Kobayashi H, et al. Excessive mechanical loading promotes osteoarthritis through the gremlin-1–NF- κ B pathway. *Nature Communications.* 2019;10(1). doi:10.1038/s41467-019-09491-5
- [126] Ding J, Luo C, Wang X, et al. Glycyrrhizin, a high-mobility group box 1 inhibitor, improves lipid metabolism and suppresses vascular inflammation in apolipoprotein E knockout mice. *Journal of Vascular Research.* 2018;55(6):365-377. doi:10.1159/000495310
- [127] Liu X, Cheng Y, Yang J, et al. Flank sequences of miR-145/143 and their aberrant expression in vascular disease: mechanism and therapeutic application. *Journal of the American Heart Association.* 2013;2(6):407-416. doi:10.1161/jaha.113.000407
- [128] Liu K, Xuekelati S, Zhang Y, et al. Expression levels of atherosclerosis-associated miR-143 and miR-145 in the plasma of patients with hyperhomocysteinaemia. *BMC Cardiovascular Disorders.* 2017;17(1):163-170. doi:10.1186/s12872-017-0596-0
- [129] Navickas R, Gal D, Laucevičius A, Taparuskaitė A, Zdanytė M, Holvoet P. Identifying circulating microRNA as biomarkers of cardiovascular disease: a systematic review. *Cardiovascular Research.* 2016;111(4):322-337. doi:10.1093/cvr/cvw174
- [130] Davis B, Chan MC, Reno K, et al. Down-regulation of Krüppel-like Factor-4 (KLF4) by microRNA-143/145 is critical for modulation of vascular smooth muscle cell phenotype by transforming growth Factor- β and bone morphogenetic protein 4. *Journal of Biological Chemistry.* 2011;286(32):28097-28110. doi:10.1074/jbc.m111.236950
- [131] Xu J, Yan S, Tan H, et al. The miR-143/145 cluster reverses the regulation effect of KLF5 in smooth muscle cells with proliferation and contractility in intracranial aneurysm. *Gene.* 2018;679(3):266-273. doi:10.1016/j.gene.2018.09.010

- [132] Zhang H, Wang Y, Cao C, et al. A regulatory circuit involving miR-143 and DNMT3a mediates vascular smooth muscle cell proliferation induced by homocysteine. *Molecular Medicine Reports*. 2015;13(1):483-490. doi:10.3892/mmr.2015.4558
- [133] Hu Y, Hu Y, Zhao J, et al. An agomir of miR-144-3p accelerates plaque formation through impairing reverse cholesterol transport and promoting pro-inflammatory cytokine production. *PLoS One*. 2014;9(4):949-967. doi:10.1371/journal.pone.0094997
- [134] Cheng J, Cheng A, Clifford B, et al. microRNA-144 silencing protects against atherosclerosis in male, but not female mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2020;40(2):412-425. doi:10.1161/atvbaha.119.313633
- [135] Fu W, Liu Z, Zhang J, Shi Y, Zhao R, Zhao H. Effect of microRNA-144-5p on the proliferation, invasion and migration of human umbilical vein endothelial cells by targeting SMAD1. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2020;19(1):165-171 doi:10.3892/etm.2019.8194
- [136] Lovren F, Pan Y, Quan A, et al. microRNA-145 targeted therapy reduces atherosclerosis. *Circulation*. 2012;126(1):81-90. doi:10.1161/circulationaha.111.084186
- [137] Chin D, Poon C, Wang J, et al. miR-145 micelles mitigate atherosclerosis by modulating vascular smooth muscle cell phenotype. *Biomaterials*. 2021;273(5):120810-120821. doi:10.1016/j.biomaterials.2021.120810
- [138] Yang W, Yin R, Zhu X, et al. Mesenchymal stem-cell-derived exosomal miR-145 inhibits atherosclerosis by targeting JAM-A. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*. 2021;23(1):119-131. doi:10.1016/j.omtn.2020.10.037
- [139] Wang R, Dong L, Meng X, Shi Q, Sun W-Y. Unique microRNA signatures associated with early coronary atherosclerotic plaques. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2015;464(2):574-579. doi:10.1016/j.bbrc.2015.07.010
- [140] Marques F, Vizi D, Khammy O, Mariani J, Kaye DM. The transcardiac gradient of cardio-microRNAs in the failing heart. *European Journal of Heart Failure*. 2016;18(8):1000-1008. doi:10.1002/ejhf.517

- [141] Costantino S, Paneni F, Lüscher T, Cosentino F. microRNA profiling unveils hyperglycaemic memory in the diabetic heart. *European Heart Journal*. 2015;37(6):572-576. doi:10.1093/eurheartj/ehv599
- [142] Nazari M, Wei Y, Noels H, et al. microRNA-155 promotes atherosclerosis by repressing Bcl6 in macrophages. *Journal of Clinical Investigation*. 2012;122(11):4190-4202. doi:10.1172/jci61716
- [143] Fitzsimons S, Oggero S, Bruen R, et al. microRNA-155 is decreased during atherosclerosis regression and is increased in urinary extracellular vesicles during atherosclerosis progression. *Frontiers in Immunology*. 2020;11(1):576-584. doi:10.3389/fimmu.2020.576516
- [144] Kurowska M, Alivernini S, Ballantine LE, et al. microRNA-155 as a proinflammatory regulator in clinical and experimental arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011;108(27):11193-11198. doi:10.1073/pnas.1019536108
- [145] Yang Y, Yang L, Liang X, Zhu G. microRNA-155 promotes atherosclerosis inflammation via targeting SOCS1. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2015;36(4):1371-1381. doi:10.1159/000430303
- [146] Tian F, An L, Wang G, et al. Elevated microRNA-155 promotes foam cell formation by targeting HBP1 in atherogenesis. *Cardiovascular Research*. 2014;103(1):100-110. doi:10.1093/cvr/cvu0704
- [147] Zhang L, Chen J, He Q, Chao Z, Li X, Chen M. microRNA-217 is involved in the progression of atherosclerosis through regulating inflammatory responses by targeting sirtuin 1. *Molecular Medicine Reports*. 2019;20(4):3182-3190. doi:10.3892/mmr.2019.10581
- [148] Yang X, Li D, Qi Y, Chen W, Yang C-H, Jiang Y-H. microRNA-217 ameliorates inflammatory damage of endothelial cells induced by oxidized LDL by targeting EGR1. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2020;475(2):41-51. doi:10.1007/s11010-020-03857-w
- [149] Zhang X, Wang Z, Li W, Huang R, Zheng D, Bi G. microRNA-217-5p ameliorates endothelial cell apoptosis induced by ox-LDL by targeting CLIC4. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2020;30(3):523-533. doi:10.1016/j.numecd.2019.09.027

- [150] Pu Y, Zhao Q, Men X, Jin W, Yang M. microRNA-325 facilitates atherosclerosis progression by mediating the SREBF1/LXR axis via KDM1A. *Life Sciences*. 2021;277(3):119464-119474. doi:10.1016/j.lfs.2021.119464
- [151] Nan S, Wang Y, Xu C, Wang H. Interfering microRNA-410 attenuates atherosclerosis via the HDAC1/KLF5/IKB α /NF- κ B axis. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*. 2021;24(1):646-657. doi:10.1016/j.omtn.2021.03.009
- [152] Freedman J, Ercan B, Morin K, et al. The distribution of circulating microRNA and their relation to coronary disease. *F1000Research*. 2012;1(1):50-58. doi:10.12688/f1000research.1-50.v1
- [153] Kihara T, Toriuchi K, Aoki H, Kakita H, Yamada Y, Aoyama M. Interleukin-1 β enhances cell adhesion in human endothelial cells via microRNA-1914–5p suppression. *Biochemistry and Biophysics Reports*. 2021;27(1):101-116. doi:10.1016/j.bbrep.2021.101046
- [154] Grebe A, Hoss F, Latz E. NLRP3 Inflammasome and the IL-1 pathway in atherosclerosis. *Circulation Research*. 2018;122(12):1722-1740. doi:10.1161/circresaha.118.311362
- [155] Huang X, Li Y, Li X, Fan D, Xin H-B, Fu M. TRIM14 promotes endothelial activation via activating NF- κ B signaling pathway. *Journal of Molecular Cell Biology*. 2019;12(3):176-189. doi:10.1093/jmcb/mjz040
- [156] Liu H, Wang H, Ma J, Qiao Z, Zhang L, Ge G. microRNA-146a-3p/HDAC1/KLF5/IKB α signal axis modulates plaque formation of atherosclerosis mice. *Life Sciences*. 2021;284(2):119-130. doi:10.1016/j.lfs.2021.119615
- [157] Carlomosti F, D'Agostino M, Beji S, et al. Oxidative stress-induced miR-200c disrupts the regulatory loop among SIRT1, FOXO1, and eNOS. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2017;27(6):328-344. doi:10.1089/ars.2016.6643
- [158] Qin X, Wang X, Wang Y, et al. microRNA-19a mediates the suppressive effect of laminar flow on cyclin D1 expression in human umbilical vein endothelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(7):3240-3244. doi:10.1073/pnas.0914882107
- [159] Chen B, Luo L, Wei X, Gong D, Jin L. Altered plasma miR-144 as a novel biomarker for coronary artery disease. *Annals of clinical and laboratory science*.

2018;48(4):440-445. Recuperado de: <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.pbidi.unam.mx:2443/30143484/>

[160] Konkoth A, Saraswat R, Dubrou C, et al. Multifaceted role of extracellular vesicles in atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2021;319(1):121-131. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2020.11.006

[161] Miao X, Zhang W, Huang Z, Li N. Unaltered angiogenesis-regulating activities of platelets in mild type 2 diabetes mellitus despite a marked platelet hyperreactivity. *PLOS ONE*. 2016;11(9):162-177 doi:10.1371/journal.pone.0162405

[162] Chiva G, Padró T, Alonso R, et al. Liquid biopsy of extracellular microvesicles maps coronary calcification and atherosclerotic plaque in asymptomatic patients with familial hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2019;39(5):945-955. doi:10.1161/atvbaha.118.312414

[163] Perdomo L, Vidal-Gómez X, Soleti R, et al. Large extracellular vesicle-associated Rap1 accumulates in atherosclerotic plaques, correlates with vascular risks and is involved in atherosclerosis. *Circulation Research*. 2020;127(6):747-760. doi:10.1161/circresaha.120.317086

[164] Fichtlscherer S, De Rosa S, Fox H, et al. Circulating microRNA in patients with coronary artery disease. *Circulation Research*. 2010;107(5):677-684. doi:10.1161/circresaha.109.215566

[165] Navickas R, Gal D, Laucevičius A, Taparauskaitė A, Zdanytė M, Holvoet P. Identifying circulating microRNAs as biomarkers of cardiovascular disease: a systematic review. *Cardiovascular Research*. 2016;111(4):322-337. doi:10.1093/cvr/cvw174

[166] Oerlemans M, Mosterd A, Dekker M, et al. Early assessment of acute coronary syndromes in the emergency department: the potential diagnostic value of circulating microRNAs. *EMBO Molecular Medicine*. 2012;4(11):1176-1185. doi:10.1002/emmm.201201749

[167] Luo L, Chen B, Li S, et al. Plasma miR-10a: A potential biomarker for coronary artery disease. *Disease Markers*. 2016;201(1):1-5. doi:10.1155/2016/3841927

[168] Kuo J, Tsai H, Lin C, et al. Low levels of microRNA-10a in cardiovascular endothelium and blood serum are related to human atherosclerotic disease. *Cardiology Research and Practice*. 2021(1):1-7. doi:10.1155/2021/1452917

- [169] Coffey S, Williams M, Phillips L, Jones G. Circulating microRNA profiling needs further refinement before clinical Use in patients with aortic stenosis. *Journal of the American Heart Association*. 2015;4(8):111-121. doi:10.1161/jaha.115.002150
- [170] Zampetaki A, Willeit P, Tilling L, et al. Prospective study on circulating microRNAs and risk of myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2012;60(4):290-299. doi:10.1016/j.jacc.2012.03.056
- [171] Devaux Y, Mueller M, Haaf P, et al. Diagnostic and prognostic value of circulating microRNAs in patients with acute chest pain. *Journal of Internal Medicine*. 2014;277(2):260-271. doi:10.1111/joim.12183
- [172] Widera C, Gupta S, Lorenzen J, et al. Diagnostic and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2011;51(5):872-875. doi:10.1016/j.yjmcc.2011.07.011
- [173] Gacoń J, Kabłak A, Stępień E, et al. Decision-making microRNAs (miR-124, -133a/b, -34a and -134) in patients with occluded target vessel in acute coronary syndrome. *Kardiologia Polska*. 2016;74(3):280-288. doi:10.5603/kp.a2015.0174
- [174] Gao H, Guddeti R, Matsuzawa Y, et al. Plasma levels of microRNA-145 are associated with severity of coronary artery disease. *PLOS ONE*. 2015;10(5):123477-123492. doi:10.1371/journal.pone.0123477
- [175] Wu S, Sun H, Sun B. MicroRNA-145 is involved in endothelial cell dysfunction and acts as a promising biomarker of acute coronary syndrome. *European Journal of Medical Research*. 2020;25(1):15-29. doi:10.1186/s40001-020-00403-8
- [176] Zhang L, Chen X, Su T, Li H, et al. Circulating miR-499 are novel and sensitive biomarker of acute myocardial infarction. *Journal of thoracic disease*. 2015;7(3):445-456. doi:10.3978/j.issn.2072-1439.2015.02.05
- [177] Zeller T, Keller T, Ojeda F, et al. Assessment of microRNAs in patients with unstable angina pectoris. *European Heart Journal*. 2014;35(31):2106-2114. doi:10.1093/eurheartj/ehu151
- [178] Coly P, Boulanger C. Role of extracellular vesicles in atherosclerosis: an update. *Journal of leukocyte biology*. 2022;11(1):51-62. doi:10.1002/JLB.3MIR0221-099R

- [179] Gui Y, Zheng H, Cao RY. Foam cells in atherosclerosis: Novel insights into its origins, consequences, and molecular mechanisms. *Frontiers in cardiovascular medicine*. 2022;9:845942. Doi:10.3389/fcvm.2022.845942
- [180] Jebari S, Galicia U, Larrea A, Olaetxea J, Alloza I, Vandenbroeck K, Benito A, martin C. Pathophysiology of atherosclerosis. *International Journal of molecular sciences*. 2022;23(6):3346. doi:10.3390/ijms23063346
- [171] Machado G, Ramos C, Marques A, Vieira O. Cell senescence, multiple organelle dysfunction and atherosclerosis. *Cells*. 2020;9(10):2146. doi:10.3390/cells9102146
- [182] Liu D, Liu J, Zhang D, Yang W. Advances in relationship between cell senescence and atherosclerosis. *Journal of Zhejiang University (Medical sciences)*. 2022;51(1):95-101. doi:10.3724/zdxbyxb-2021-0270
- [183] Chen M, Lee RT, Garbern JC. Senescence mechanism and targets in the heart. *Cardiovascular Research*. 2022;118(5):1173-1187. doi:10.1093/cvr/cvab161
- [184] Zha, Yiwen et. al. Senescence in vascular smooth muscle cells and atherosclerosis. *Frontiers in cardiovascular medicine*. 2022;9:910580. doi:10.3389/fcvm.2022.910580
- [185] Ramirez R, Ceprian N, Figuer A, et. al. Endothelial senescence and the chronic vascular diseases: challenges and therapeutic opportunities in atherosclerosis. *Journal of personalized medicine*. 2022;12(2):215. doi:10.3390/jpm12020215
- [186] Hu C, Zhan X, Teng T, Ma Z, Tang Q. Cellular Senescence in cardiovascular diseases: a systematic review. *Aging and Disease*. 2022;13(1):103-128. doi:10.14336/AD.2021.0927
- [187] Kitada M, Ogura Y, Koya D. The protective role of Sirt1 in vascular tissue: its relationship to vascular aging and atherosclerosis. *Aging*. 2016;8(10):2290-2307. doi:10.18632/aging.101068
- [188] Bai B, Man A, Yang K, et al. Endothelial SIRT1 prevents adverse arterial remodeling by facilitating HERC2-mediated degradation of acetylated LKB1. *Oncotarget*. 2016;7(26):39065-39081. doi:10.18632/oncotarget.9687
- [189] Zhu C, Yu Y, Montani J, Ming X, Yang Z. Arginase-I enhances vascular endothelial inflammation and senescence through eNOS-uncoupling. *BMC Research Notes*. 2017;10(1). doi:10.1186/s13104-017-2399-x

- [190] Lowe D, Raj K. Premature aging induced by radiation exhibits pro-atherosclerotic effects mediated by epigenetic activation of CD 44 expression. *Aging Cell*. 2014;13(5):900-910. doi:10.1111/accel.12253
- [191] Babinska A, Clement C, Przygodzki T, et al. A peptide antagonist of F11R/JAM-A reduces plaque formation and prolongs survival in an animal model of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2019;284(1):92-101. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2019.02.014
- [192] Grootaert M, Moulis M, Roth L, et al. Vascular smooth muscle cell death, autophagy and senescence in atherosclerosis. *Cardiovascular Research*. 2018;114(4):622-634. doi:10.1093/cvr/cvy007
- [193] Durham A, Speer M, Scatena M, Giachelli CM, Shanahan CM. Role of smooth muscle cells in vascular calcification: implications in atherosclerosis and arterial stiffness. *Cardiovascular Research*. 2018;114(4):590-600. doi:10.1093/cvr/cvy010
- [194] Yang F, Shu K, Chen H, et al. Anti-cytomegalovirus IgG antibody titer is positively associated with advanced T cell differentiation and coronary artery disease in end-stage renal disease. *Immunity & Ageing*. 2018;15(1):15-24. doi:10.1186/s12979-018-0120-0
- [195] Peng J, Yang Q, Li A, et al. Tet methylcytosine dioxygenase 2 inhibits atherosclerosis via upregulation of autophagy in ApoE^{-/-} mice. *Oncotarget*. 2016;7(47):76423-76436. doi:10.18632/oncotarget.13121
- [196] Liu Y, Peng W, Qu K, et al. TET2: a novel epigenetic regulator and potential intervention target for atherosclerosis. *DNA and Cell Biology*. 2018;37(6):517-523. doi:10.1089/dna.2017.4118
- [197] Lee S, Lee I-K, Jeon J. Vascular calcification new insights into its mechanism. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(8):2685-2694. doi:10.3390/ijms21082685
- [198] Li M, Wang ZW, Fang LJ, Cheng SQ, Wan X, Liu NF. Programmed cell death in atherosclerosis and vascular calcification. *Cell Death and Disease*. 2022;13(5):467, doi:10.1038/s41419-022-04923-5
- [199] Lin L, Zhan M, Zhang L, Zhang D, Li C, Li Y. Autophagy, pyroptosis, and ferroptosis: new regulatory mechanisms for atherosclerosis. *Frontier in cell and developmental biology*. 2022;9:809955. doi:10.3389/fcell.2021.809955

- [200] Lin X, Ouyang S, Zhi C, Li P, Tan X, Ma W, Yu J, Peng T, Chen X, Li L, Xie W. Focus on ferroptosis, pyroptosis, apoptosis and autophagy of vascular endothelial cells to the strategic targets for the treatment of atherosclerosis. *Archives of biochemistry and biophysics*. 2022;715:109098. doi:10.1016/j.abb.2021.109098
- [201] Nakamura S, Yoshimori T. Autophagy and longevity. *Molecules and cells*. 2018;41(1):65-72. doi:10.14348/molcells.2018.2333
- [202] Eshghjoo S, Kim D, Jayaraman A, Sun Y, Alaniz R. Macrophage polarization in atherosclerosis. *Genes*. 2022;13(5):756. Doi:10.3390/genes13050756
- [203] Groenen A, Halmos B, Tall A, Westerterp M. Cholesterol efflux pathways, inflammation, and atherosclerosis. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 2021;56(4):426-439. doi:10.1080/10409238.2021.1925217
- [204] Yu X, Jiang N, Yao P-B, Zheng X-L, Cayabyab FS, Tang C-K. NPC1, intracellular cholesterol trafficking and atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta*. 2014;429(3):69-75. doi:10.1016/j.cca.2013.11.026
- [205] Schmitz C, Noels H, Bounkari OE, et al. Mif -deficiency favors an atheroprotective autoantibody phenotype in atherosclerosis. *The FASEB Journal*. 2018;32(8):4428-4443. doi:10.1096/fj.201800058r
- [206] Döring Y, Van der Vorst E, Duchene J, et al. CXCL12 derived from endothelial cells promotes atherosclerosis to drive coronary artery disease. *Circulation*. 2019;139(10):1338-1340. doi:10.1161/circulationaha.118.037953
- [207] Shankman L, Gomez D, Cherepanova O, et al. KLF4-dependent phenotypic modulation of smooth muscle cells has a key role in atherosclerotic plaque pathogenesis. *Nature Medicine*. 2015;21(6):628-637. doi:10.1038/nm.3866
- [208] Yu C, Zhang C, Kuang Z, Zheng Q. The Role of NLRP3 inflammasome activities in bone diseases and vascular calcification. *Inflammation*. 2020;44(2):434-449. doi:10.1007/s10753-020-01357-z
- [209] Johnson J. Metalloproteinases in atherosclerosis. *European Journal of Pharmacology*. 2017;816(1):93-106. doi:10.1016/j.ejphar.2017.09.007
- [210] Hu W, Wei R, Wang L, Lu J, Liu H, Zhang W. Correlations of MMP-1, MMP-3, and MMP-12 with the degree of atherosclerosis, plaque stability and cardiovascular and cerebrovascular events. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2018;15(2):1994-1998. doi:10.3892/etm.2017.5623

- [211] Vartak T, Kumaresan S, Brennan E. Decoding microRNA drivers in atherosclerosis. *Bioscience reports*. 2022;42(7):20212355. doi:10.1042/BSR20212355.
- [212] Sharma A, Sharma G, Bhattacharya M, Lee S, Chakraborty C. Circulating miRNA in atherosclerosis: a clinical biomarker and early diagnostic tool. *Current molecular medicine*. 2022;22(3):250-262. doi:10.2174/1566524021666210315124438
- [213] Kianmehr A, Qujeq D, Bagheri A, Mahrooz A. Oxidized LDL-regulated microRNA for evaluating vascular endothelial function: molecular mechanisms and potential biomarker roles in atherosclerosis. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 2022;59(1):40-53. Doi:10.1080/10408363.2021.1974334