



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA**

**PAPEL DE LAS VESÍCULAS EXTRACELULARES Y LOS
microRNAs EN EL INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA:
JEAN LEVI LÓPEZ ESPARZA**

**TUTORA:
DRA. LEONOR JACOBO ALBAVERA**



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: Profesor: Cruz García Felipe

VOCAL: Profesor: Camacho Arroyo Ignacio

SECRETARIO: Profesor: Jacobo Albavera Leonor

1er. SUPLENTE: Profesor: Pérez Montesinos Gibran

2° SUPLENTE: Profesor: Gutiérrez Aguilar Manuel

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: VÍA REMOTA,
INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA GENÓMICA.

ASESOR DEL TEMA: DRA. LEONOR JACOBO ALBAVERA

SUSTENTANTE: JEAN LEVI LÓPEZ ESPARZA

INDICE GENERAL

	Página
I. Lista de abreviaturas	1
II. Índice de tablas	5
III. Índice de figuras	6
IV. Resumen	7
V. Justificación	8
VI. Alcance	9
VII. Objetivos	
A. Objetivo general	9
B. Objetivos particulares	9
VIII. Metodología de investigación	10
IX. Introducción	11
Capítulo I	
1. Infarto agudo de miocardio	11
1.1 Epidemiología	11
1.2 Fisiopatología	12
1.3 Factores de riesgo	16
Capítulo II	
2. Vesículas extracelulares	23
2.1 Clasificación	23
2.1.1 Exosomas	24
2.1.2 Microvesículas	28

2.1.3 Cuerpos apoptóticos	32
Capítulo III	
3. MicroRNAs	34
3.1 Definición	34
3.2 Origen o formación	35
Capítulo IV	
4. Vesículas extracelulares, microRNAs e infarto agudo de miocardio	40
X. Discusión	52
XI. Conclusiones	61
XII. Referencias	62

I. Lista de abreviaturas

Se muestran las abreviaturas de acuerdo a orden de aparición dentro del documento.

- **IAM:** Infarto agudo de miocardio.
- **SCA:** Síndrome coronario agudo.
- **WHO:** Organización Mundial de la Salud.
- **INEGI:** Instituto Nacional de Estadística y Geografía.
- **LDL:** Lipoproteínas de baja densidad.
- **LDLm:** Lipoproteínas de baja densidad modificadas.
- **ROS:** Especies reactivas de oxígeno.
- **MCP-1:** Proteína quimiotáctica de monocito 1.
- **IL-1 β :** Interleucina 1 beta.
- **IL-8:** Interleucina 8.
- **VCAM-1:** Molécula de adhesión vascular 1.
- **ICAM-1:** Molécula de adhesión intercelular 1.
- **MMP:** Metaloproteinasas de matriz extracelular.
- **M-CSF:** Factor estimulante de colonias de macrófagos.
- **SRA:** Receptor carroñero A.
- **Treg:** Linfocito T regulador.
- **Th-1:** Linfocito T cooperador 1.
- **DC:** Célula dendrítica.
- **TNF- α :** Factor de necrosis tumoral alfa.
- **TF:** Factor tisular.
- **CE:** Célula espumosa.
- **CC:** Cascada de coagulación.
- **VII:** Proconvertina.
- **VIIa:** Convertina.
- **FVa:** Acelerina.
- **Xa:** Factor Stuart-Prower activado.

- **II:** Protrombina.
- **I:** Fibrinógeno.
- **Ia:** Fibrina.
- **XIIIa:** Factor estabilizante de fibrina.
- **CAD:** Enfermedad arterial coronaria.
- **HTA:** Hipertensión arterial.
- **SNP:** Polimorfismo de un solo nucleótido.
- **LDLR:** Receptor de lipoproteínas de alta densidad.
- **C-HDL:** Colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad.
- **AGT:** Angiotensinógeno.
- **VEGF:** Factor de crecimiento endotelial vascular.
- **ATG5:** Proteína relacionada con la autofagia 5.
- **HDL:** Lipoproteínas de alta densidad.
- **VLDL:** Lipoproteínas de muy baja densidad.
- **C-LDL:** Colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad.
- **CO:** Monóxido de carbono.
- **EV:** Vesícula extracelular.
- **ILV:** Vesícula intraluminal.
- **MVB:** Cuerpo multivesicular.
- **ESCRT:** Complejo de clasificación endosomal necesario para el transporte.
- **ALIX:** Proteína X que interactúa con manosiltransferasa ALG-2.
- **CD:** Clúster de diferenciación.
- **TSPAN:** Tetraspanina.
- **LBPA:** Ácido lisobisfosfatídico.
- **RAB:** Proteína de unión asociada a Ras.
- **MHC:** Complejo mayor de histocompatibilidad.
- **APP:** Proteína precursora amiloidea.
- **PMEL:** Proteína de melanocitos.
- **TCR:** Receptor de linfocitos T.
- **FasL:** Ligando de Fas.

- **CXCR**: Receptor de quimiocinas C-X-C.
- **HSP**: Proteína de choque térmico.
- **PrP**: Proteína priónica.
- **TFR**: Receptor de transferrina.
- **WNT**: Proteínas Wingless e Int.
- **GAPDH**: Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa
- **TSG101**: Proteína del gen 101 de susceptibilidad tumoral
- **VPS**: Proteína asociada a la clasificación de proteínas vacuolares
- **HSP**: Proteína de choque térmico
- **DNAm**: DNA mitocondrial
- **DNAd**: DNA de doble hebra
- **RNAm**: RNA mensajero
- **RNAr**: RNA ribosomal
- **RNAt**: RNA de transferencia
- **RNA vault**: RNA bóveda.
- **ARF6**: Factor 6 de ADP-ribosilación
- **ROCK**: Proteína cinasa asociada a Rho.
- **PECAM**: Molécula de adhesión de células endoteliales plaquetarias.
- **LFA**: Antígeno asociado a la función de linfocitos.
- **TGF-β**: Factor transformante de crecimiento beta.
- **siRNA**: RNA pequeño de interferencia.
- **asiRNA**: RNA pequeño de interferencia asociado a repetición.
- **piwiRNA**: RNA que interactúa con piwi.
- **miRNA**: MicroRNA.
- **pri-miRNA**: MicroRNA primario.
- **pre-miRNA**: MicroRNA precursor.
- **RNA Pol II**: RNA polimerasa II.
- **RNAse III**: RNasa III endoribonucleasa nuclear de tipo III específica de RNA bicatenario
- **DGCR8**: Proteína de unión a RNA de la región crítica 8 del síndrome de DiGeorge

- **XPO5**: Exportina 5.
- **RAN-GTP**: GTPasa-Ran.
- **DICER1**: RNAsa III endoribonucleasa citoplasmática con actividad de corte de RNA bicatenario.
- **TRBP**: Proteína de unión a RNA sensible a la transactivación.
- **miRISC**: Complejo de silenciamiento inducido por miRNA.
- **AGO**: Proteínas argonautas.
- **GW182**: Proteína Glicina-Triptófano de 182 kDa.
- **SUFU**: Supresor de homólogo fusionado.
- **SHH**: Vía de señalización Sonic Hedgehog.
- **CK**: Creatinin cinasa.
- **NMN**: Nicotinamida mononucleótido.
- **HUVECs**: Células endoteliales de la vena umbilical humana.
- **MIF**: Factor inhibidor de la migración de macrófagos.

II. Índice de tablas

Tabla	Página
a) Tabla 1. Composición de la membrana exosómica.	26
b) Tabla 2. Composición del lumen exosomal.	27
c) Tabla 3. Composición de la membrana microvesicular.	30
d) Tabla 4. Composición del lumen microvesicular.	31
e) Tabla 5. Proteínas y microRNAs de vesículas extracelulares con efecto biológico en IAM.	44
f) Tabla 6. Proteínas y microRNAs de exosomas con efecto biológico en IAM.	48
g) Tabla 7. Proteínas y microRNAs de microvesículas con efecto biológico en IAM.	50
h) Tabla 8. Métodos de aislamiento y caracterización de microvesículas.	54

III. Índice de figuras

Figura	Página
a) Figura 1. Formación de la placa aterosclerótica.	12
b) Figura 2. Progresión de la lesión aterosclerótica	14
c) Figura 3. Ruptura de la placa aterosclerótica, trombogénesis e inicio de IAM.	15
d) Figura 4. Biogénesis de exosomas	25
e) Figura 5. Biogénesis de microvesículas. A) Biogénesis en células activadas B) Biogénesis en células tumorales o en apoptosis temprana	29
f) Figura 6. Biogénesis de cuerpos apoptóticos	33
g) Figura 7. Biogénesis de miRNAs por la vía canónica	36
h) Figura 8. Biogénesis de mirtrones por la vía no canónica	38
i) Figura 9. Efectos biológicos de las EVs y los microRNAs en IAM.	41
j) Figura 10. Potencial pro-coagulante y proinflamatorio de las microvesículas.	49
k) Figura 11. Producción escalable de vesículas extracelulares.	59

IV. Resumen

En la actualidad, las cardiopatías siguen siendo la principal causa de muerte en el mundo, dentro de las cuales se encuentra el infarto agudo de miocardio (IAM), el cual pertenece a un grupo de enfermedades definidas como Síndrome Coronario Agudo, donde su principal característica es la disminución de la perfusión sanguínea. El IAM al ser una patología totalmente multifactorial representa una problemática que requiere de alternativas terapéuticas para poder combatirlo, por lo que el objetivo de este Trabajo Monográfico de Actualización (TMA) es presentar un panorama en torno a los conceptos de vesículas extracelulares (EVs) y microRNAs para entender la importancia que tienen éstos en el infarto agudo de miocardio. Para ello, se realizó una búsqueda de tipo bibliográfica en medios electrónicos de libre acceso, tales como bibliotecas digitales, libros y revistas indexadas de reciente publicación. A partir de esto, se explica de manera individual cada tema incluido en el trabajo, como los conceptos relacionados con el infarto agudo de miocardio, vesículas extracelulares y microRNAs, hasta la importancia de estos últimos en IAM, donde se han descrito efectos cardioprotectores, pro-angiogénicos y pro-supervivencia celular que repercuten de manera positiva en la lesión miocárdica, así como efectos negativos que agravan la enfermedad mediante mecanismos pro-apoptóticos, pro-fibróticos y pro-trombóticos, y la posible participación de dichas estructuras como biomarcadores para el diagnóstico del grado de lesión aterosclerótica. Derivado de la información plasmada en el presente trabajo se puede sugerir la posible aplicación terapéutica de las EVs y algunos microRNAs para tratar la lesión cardiovascular, así como su uso como biomarcadores para el diagnóstico temprano y evidencia del grado de daño por IAM.

V. Justificación

Las cardiopatías son la principal causa de muerte alrededor del mundo por lo que es necesario que las medidas de diagnóstico y tratamiento sean de vanguardia. Al día de hoy se cuentan con distintas terapias, entre las que destacan el uso de fármacos de tipo anticoagulante, trombolíticos, fibrinolíticos, vasodilatadores, analgésicos, beta bloqueadores, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) y estatinas, así como procedimientos quirúrgicos como la angioplastia coronaria con la colocación de un stent y la cirugía de baipás arterial. Sin embargo, se tiene evidencia de que los pacientes presentan una lesión conocida como lesión letal por reperfusión. Posterior a las intervenciones quirúrgicas acompañadas de fármacos donde es necesaria su atención. Sumado a esto, el uso de los marcadores cardiacos actuales se puede ver limitado ya que muchos de ellos no son específicos al 100% para el IAM y se presentan en un tiempo posterior al evento cardiaco. Tomando como base lo anterior y el hecho de que el IAM es una enfermedad de índole multifactorial, actualmente se tiene registro de que diversos investigadores alrededor del mundo tienen un particular interés en el estudio de las vesículas extracelulares y los microRNAs por la necesidad de definir y explicar cuál es el papel que cumplen estos en el infarto agudo de miocardio, ya que, actualmente se cuenta con información sobre la posible interacción tanto positiva como negativa de dichas estructuras con el desarrollo de la enfermedad cardiovascular, así como su probable uso como biomarcadores y agentes terapéuticos, considerando esto último como la base del futuro desarrollo de nuevas preguntas de investigación.

VI. Alcance

El presente TMA es una investigación documental que tiene como base la revisión de artículos de revistas especializadas en el tema de vesículas extracelulares, microRNAs y su papel en el desarrollo del IAM. Se pretende establecer una base documental que podría usarse para el desarrollo de aplicaciones como biomarcadores de diagnóstico temprano o una terapia novedosa para contrarrestar los efectos del IAM.

VII. Objetivos

A. Objetivo General

Realizar una revisión bibliográfica y elaborar un trabajo monográfico de actualización en el que se plasme la importancia de las vesículas extracelulares y los microRNAs en el infarto agudo de miocardio.

B. Objetivos particulares

- Definir el infarto agudo de miocardio, las vesículas extracelulares, los microRNAs y sus características.
- Determinar el papel de las vesículas extracelulares y los microRNAs en el desarrollo del infarto agudo de miocardio.
- Investigar el uso de las vesículas extracelulares y los microRNAs como biomarcadores de infarto agudo de miocardio.
- Hacer uso de herramientas electrónicas para realizar figuras integrativas que enriquezcan este trabajo monográfico de actualización.

VIII. Metodología de investigación

La revisión realizada es de tipo descriptivo, se busca proporcionar una lectura útil y con conceptos actualizados; en su elaboración se consultaron bases de datos tales como OMICSearch, PubMed, Redalyc, SciELO, Dialnet, Quertle, Google Scholar, etc., sobre artículos ya sea en inglés o en español de 5 a 10 años de antigüedad que brindaron información sobre los temas y subtemas desarrollados. Para los conceptos generales se utilizaron escritos con una antigüedad mayor a la descrita y se seleccionaron sólo los documentos con información concreta útil, se realizó un resumen de dichos documentos y se hizo una síntesis específica con relación al tema central del trabajo. Se crearon figuras mediante la herramienta electrónica "Biorender", para ilustrar gráficamente la información obtenida.

IX. Introducción

Capítulo I

1. Infarto agudo de miocardio

El IAM es una condición perteneciente a un grupo de enfermedades, en donde, la principal característica definitoria es una disminución en la perfusión sanguínea, dicho grupo se encuentra definido como Síndrome Coronario Agudo (SCA); en este mismo grupo se encuentran descritos los infartos agudos de miocardio con o sin elevación del segmento ST y la angina inestable. La terminología de SCA fue introducida y acuñada por el cardiólogo español Valentín Fuster Carulla, con el objetivo de designar un término para el conjunto de síntomas clínicos que fuesen compatibles con la isquemia miocárdica aguda (1, 2, 3).

1.1 Epidemiología

Según lo reportado por la Organización Mundial de la Salud (WHO, por sus siglas en inglés) en un comunicado de prensa del año 2020 (4), las cardiopatías, después de 20 años, siguen siendo la primera causa de muerte en la población mundial y por otro lado los datos encontrados en su página web (5) dictan que en el año 2019 se estimaron más de 17.9 millones de fallecimientos debidos a las enfermedades cardiovasculares, representando el 32 % de las muertes en el mundo, siendo el 85% de la cifra anterior atribuido a infartos y accidentes cerebrovasculares. Se sabe también, que alrededor de 13.5 millones de los fallecimientos tuvieron lugar en países en vías de desarrollo y con bajos ingresos. En México, el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), en un comunicado de prensa del año 2021, de manera preliminar, dio a conocer las cifras de mortandad totales correspondientes al año 2020, donde el 92.4 % de las mismas, fue representado por enfermedades y problemas relacionados con la salud: de ese porcentaje, el 20.2% corresponde a enfermedades del corazón, siendo ésta la primera causa de muerte en el país entre la población mayor a 45 años de edad. De manera más específica, el 76.3% de las muertes ocasionadas

por enfermedades cardiovasculares son causadas por enfermedades isquémicas (6).

1.2 Fisiopatología

La aterosclerosis es una patología arterial, donde los principales agentes etiopatológicos son las células del sistema inmunológico, algunas proteínas y lípidos, como las metaloproteinasas de matriz extracelular (MMPs) y las lipoproteínas de bajo peso molecular (LDL) de manera respectiva; la aterosclerosis es el mecanismo subyacente de IAM y otras enfermedades cardiovasculares. En la **Figura 1** se muestra el mecanismo de aterogénesis.

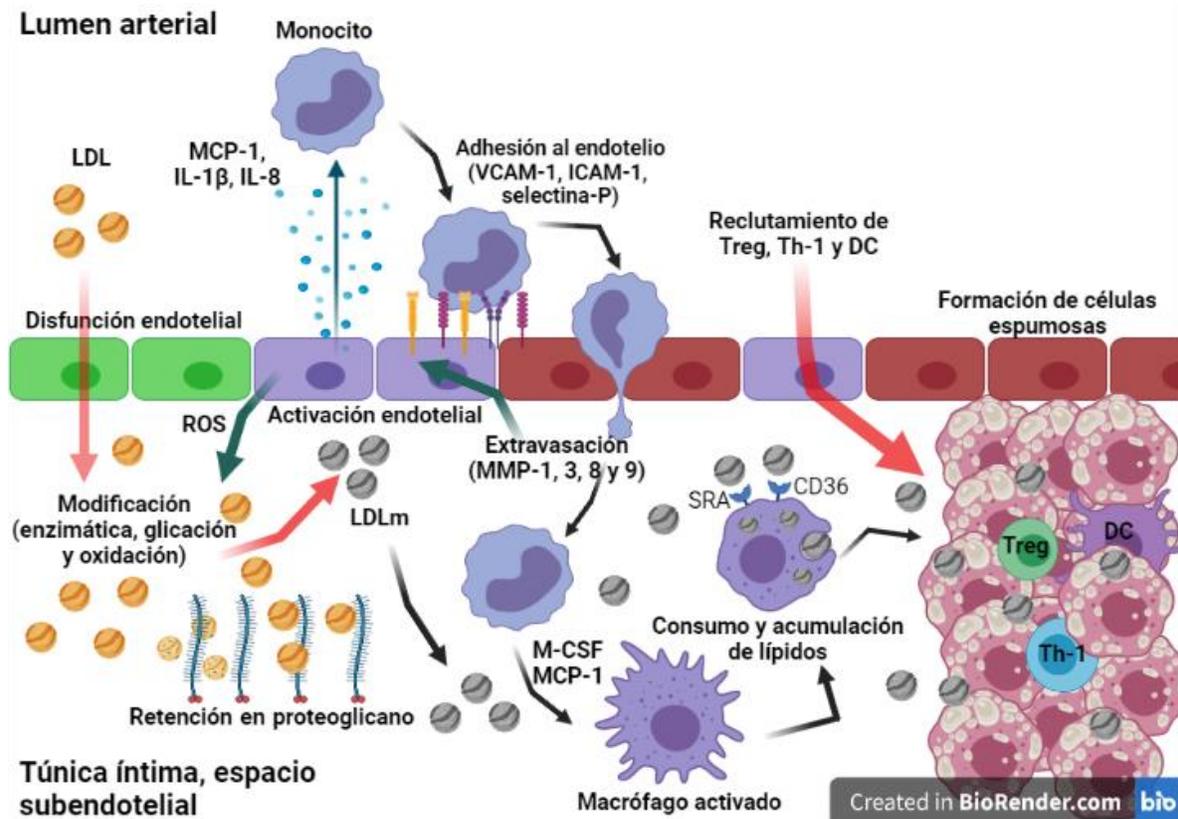


Figura 1. Formación de la placa aterosclerótica. La disfunción endotelial favorece la internalización de las LDL hacia la túnica íntima arterial y quedan retenidas en proteoglicano siendo vulnerables a modificaciones (enzimática, glicación y oxidación). La LDL modificada induce la activación endotelial, la secreción de moléculas quimioatrayentes y la expresión de moléculas de adhesión; se promueve la diapédesis y la extravasación de monocitos del lumen arterial al espacio subendotelial. Las MMPs activan el endotelio promoviendo la secreción de ROS, modificando las LDL que siguen internalizándose. La presencia de M-CSF y MCP-1 inicia la diferenciación de

monocitos a macrófagos y la LDL modificada induce la expresión de los receptores SRA y CD36 en los últimos, permitiendo el consumo y acumulación de lípidos, convirtiéndose en células espumosas; el endotelio activado sigue secretando moléculas quimioatrayentes que reclutan otras células que en conjunto con las células espumosas y los lípidos forman la placa aterosclerótica. LDL: lipoproteínas de bajo peso molecular; LDLm: lipoproteínas de bajo peso molecular modificadas; ROS: especies reactivas de oxígeno; MCP-1: proteína quimiotáctica de monocitos 1; IL-1 β : interleucina 1 beta; IL-8: interleucina 8; VCAM-1: molécula de adhesión vascular 1; ICAM-1: molécula de adhesión intercelular 1; MMP: metaloproteínasa de matriz extracelular; M-CSF: factor estimulante de colonias de macrófagos; SRA: receptor carroñero A; Treg: linfocito T regulador; Th-1: linfocito T cooperador 1; DC: célula dendrítica. Modificación y traducción de The Role of Lipids and Lipoproteins in Atherosclerosis (21) [Imagen] y apoyado de las referencias: 22, 23. Imagen creada en <https://biorender.com/>.

La progresión de la lesión aterosclerótica (Ver **Figura 2**) depende no sólo de la infiltración celular sino también de la cantidad de citocinas proinflamatorias que son secretadas por células dendríticas y células T cooperadoras (Th-1) en el espacio subendotelial (21). Después del reclutamiento de las células del musculo liso (SMC, por sus siglas en inglés) por parte de las células espumosas (CE) y células endoteliales, se forma una capa fibrosa que provee protección anti-ruptura a la placa aterosclerótica (21, 22), esta etapa depende de la cantidad de células T reguladoras (Treg) y citocinas antiinflamatorias en el microambiente, al cabo de un tiempo, la población de Treg se reduce (21). Lo que desencadenaría la ruptura de la placa y un infarto agudo de miocardio.

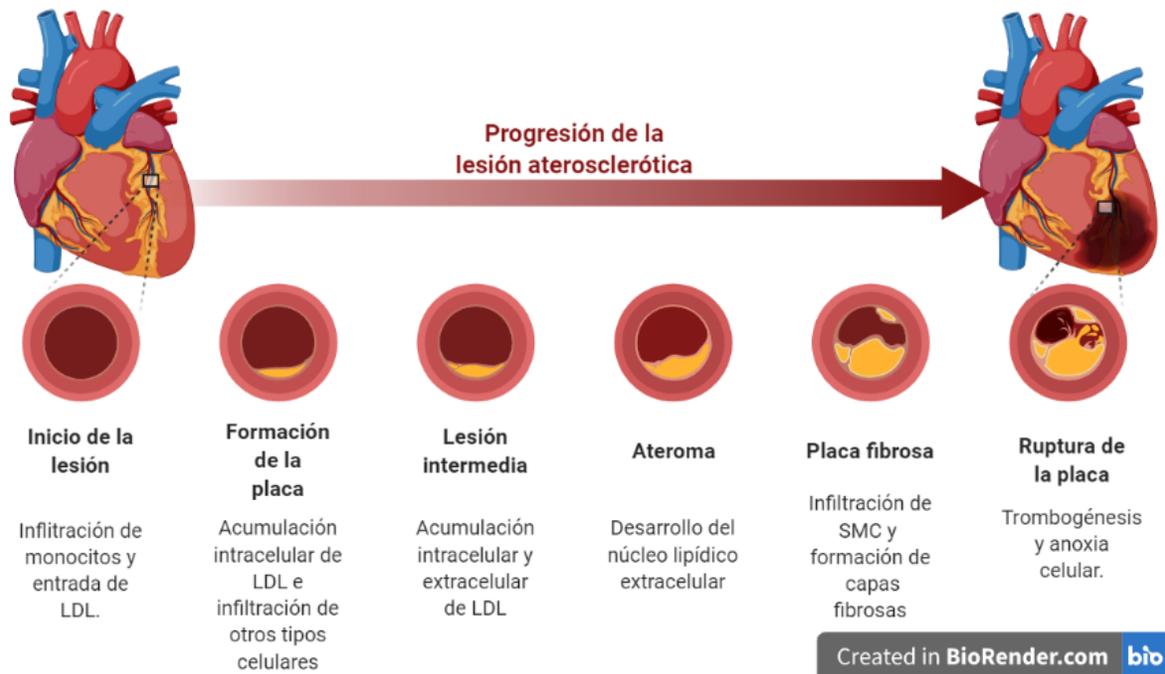


Figura 2. Progresión de la lesión aterosclerótica. La aterogénesis inicia, cuando el endotelio permite la permeabilización de LDL y la infiltración de monocitos hacia el espacio subendotelial arterial, donde comienza la ingesta e internalización de LDL. Posterior a la ingesta, la acumulación de células y lípidos dan paso a la formación del núcleo lipídico. Las citocinas proinflamatorias secretadas por células endoteliales y CE atraen otros tipos celulares, entre ellos, SMC, que permiten la formación de capas fibrosas. La ruptura de la placa aterosclerótica es provocada por la decreciente estabilidad de la misma y por el microambiente presente en el núcleo lipídico, lo que desemboca en la formación de un trombo y un estado anóxico. LDL: lipoproteínas de bajo peso molecular; SMC: células del músculo liso. Imagen creada a partir de las referencias: 21,22. Imagen creada en <https://biorender.com/>.

Un infarto agudo de miocardio ocurre cuando existe una reducción en la circulación miocárdica, lo que causa muerte celular por necrosis (7); se debe a la formación de un trombo rico en plaquetas en una arteria coronaria, el cual, es resultado de la ruptura o formación de una fisura en la placa aterosclerótica, por la sobreproducción de citocinas proinflamatorias por parte de las células espumosas, tales como las interleucinas IL-1 β , IL-6, IL-8 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) (21), la secreción de MMPs (21, 22) y la disminución de las citocinas antiinflamatorias (21), lo que implica una exposición de la sangre ante lípidos trombogénicos, células del músculo liso (24) y macrófagos cargados de lípidos (células espumosas) que expresan factor tisular (TF, por sus siglas en inglés) (8, 9, 21, 22), desencadenando la activación plaquetaria y el inicio de la cascada de

coagulación por la vía extrínseca (Ver **Figura 3**). La muerte celular por necrosis es debida a que la demanda de oxígeno por parte de los miocitos no puede ser atendida por la reducción en la perfusión sanguínea (9).

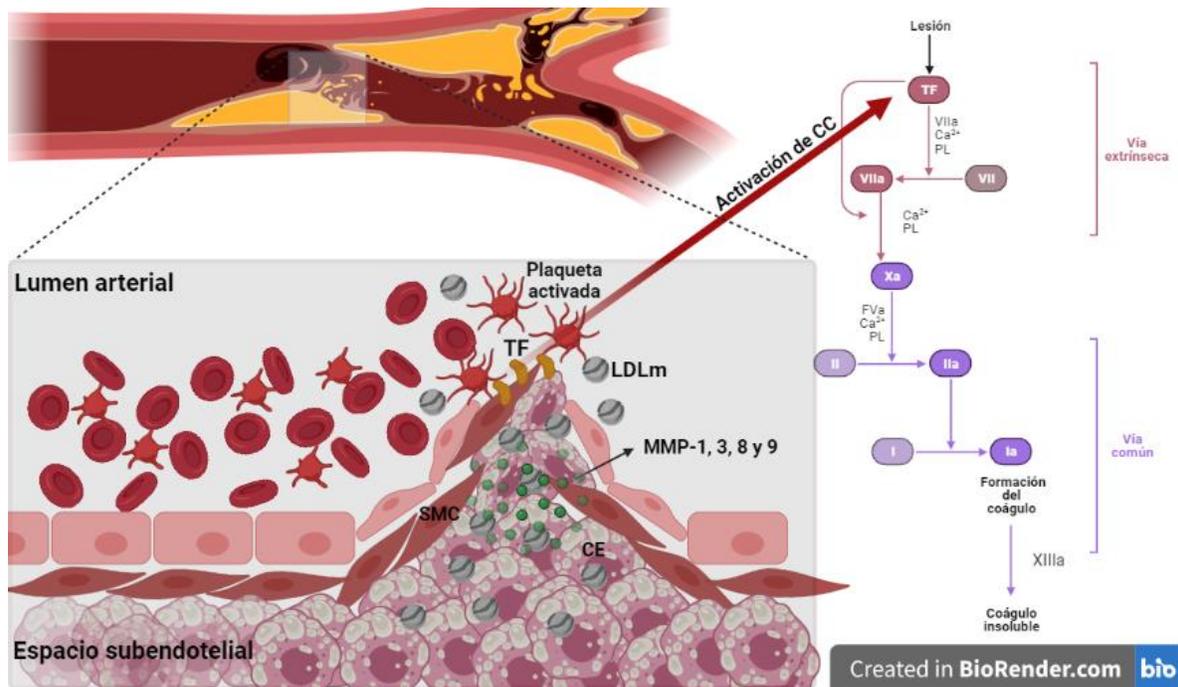


Figura 3. Ruptura de la placa aterosclerótica, trombogénesis e inicio de IAM. La sobreproducción de MMPs por parte de las células espumosas y el microambiente presente en el espacio subendotelial facilitan la ruptura de la placa aterosclerótica y sus elementos celulares, proteicos y lipídicos entran en contacto con la sangre y sus componentes. Las SMCs y las CE que expresan factor tisular provocan la activación de plaquetas y de la cascada de coagulación desencadenando la trombogénesis y el inicio de IAM. TF: factor tisular; LDLm: lipoproteínas de bajo peso molecular modificadas; SMC: célula del músculo liso; CE: célula espumosa; MMP: metaloproteinasas de matriz; CC: cascada de coagulación; VII: proconvertina; Vila: convertina; FVa: acelerina; Xa: factor Stuart-Prower activado; II: protrombina; Ila: trombina; I: fibrinógeno; Ia: fibrina; XIIIa: factor estabilizante de fibrina. Imagen creada a partir de las referencias: 8, 9, 21, 22. Imagen creada en <https://biorender.com/>.

Se tiene evidencia de que existen otras situaciones esporádicas o raras no ateroscleróticas que pueden dar origen a un IAM como la arteritis, un traumatismo, disección de arterias coronarias, tromboembolias, uso y abuso de cocaína, complicaciones con un catéter cardiaco, hipotensión, anemia y anomalías congénitas (10).

1.3 Factores de riesgo

La presentación de un síndrome coronario agudo en la población, como un IAM, es totalmente multifactorial y con respecto a los factores de riesgo que lo desencadenan, actualmente podemos encontrar una clasificación que se divide en tres grandes categorías:

a) Factores de riesgo no modificables.

- Edad:

Se sabe que la alta probabilidad de padecer una cardiopatía isquémica gracias a la edad, se manifiesta mediante varios factores fisiológicos que se presentan en una edad avanzada como: el incremento de la actividad simpática, la disminución de la sensibilidad de los barorreceptores, los cuales, detectan cambios en la distensión arterial y permiten corregir variaciones en la presión arterial; de igual forma, conforme se incrementa la edad, disminuye la respuesta reguladora de los diferentes sistemas biológicos y existe un incremento en la tensión arterial sistólica y diastólica, en la rigidez arterial y otros efectos de índole metabólico, involutivo y apoptótico (11,12).

- Sexo:

La enfermedad arterial coronaria (CAD, por sus siglas en inglés) tiene una mayor incidencia en los varones que en las mujeres, ya que en las últimas, se presenta de manera tardía gracias a mecanismos hormonales (12, 13); la incidencia de CAD, durante los periodos fértiles es muy baja y en contraste a esto, en el periodo de menopausia, se ha encontrado que se presenta un riesgo progresivo (11).

- Historial familiar y herencia genética:

El historial familiar, es considerado como uno de los principales factores determinantes para padecer alguna enfermedad de índole multifactorial como las enfermedades cardiovasculares, ya que el efecto que ejerce este factor es independiente de los otros que se mencionan en el presente trabajo, como la hipertensión arterial (HTA), tabaquismo, diabetes mellitus y la dislipidemia. Si un

padre después de los 45 años o una madre después de los 65 años presentan un infarto de miocardio, es muy probable que uno de sus hijos o componentes de generaciones futuras tengan la predisposición a presentar un infarto prematuro (11 y 12). Con respecto al componente genético que influye en la presentación de enfermedades ateroscleróticas, se ha encontrado que la incidencia de dicha patología es debida principalmente a alteraciones en genes que tienen efectos sobre el metabolismo de las lipoproteínas, como polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) (c*. 52 A/G y c*. 773 A/G) de la región 3'-UTR del gen del receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDLR) encargado de mediar la endocitosis de las lipoproteínas plasmáticas que contienen Apo-B y lipoproteínas ricas en triglicéridos, las cuales son precursoras de las LDL; los SNP encontrados en este gen se relacionan con un nivel menor de colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad (c-HDL) en plasma (15), aunque también se han descrito otras alteraciones (11), como el caso del gen modificador del angiotensinógeno (AGT), el cual, tiene una intervención muy importante en el sistema renina-angiotensina-aldosterona, que participa en la homeostasis de la presión arterial (14). SNPs en el gen del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (25) se han asociado con enfermedades ateroscleróticas coronarias, principalmente se ha reportado que la sobreexpresión de VEGF-A (16), desempeña un papel importante en la formación, progresión y la inestabilidad de la placa aterogénica mediante mecanismos proinflamatorios y angiogénicos (16, 25). Nuevas variantes heterocigotas (g. 31806C>T, g. 31900G>C y 32241C>T) del promotor del gen *GATA4*, que tiene una participación en el desarrollo del corazón y otros órganos vitales han sido reportadas; el efecto causado por estas variantes se ve reflejado en un incremento de la actividad transcripcional del promotor de *GATA4* y por ende, en la elevación de los niveles de la proteína. Cuando *GATA4*, en conjunto con otros factores, activa la expresión del gen de endotelina-1 específico del endotelio, se genera un daño y causa disfunción endotelial e inflamación, elementos que participan en la formación de la placa aterosclerótica (26). Además se ha observado que una delección (g. 106326168_70delTCT) en el promotor del gen de la proteína relacionada con autofagia 5 (*ATG5*), la cual es parte importante del complejo *ATG16L*, que participa en la formación del

autofagosoma dentro del proceso de homeostasis celular, provoca la disminución en la actividad transcripcional, modificando así los niveles de ATG5 y contribuyendo al desarrollo de IAM (27).

b) Factores de riesgo modificables.

- Actividad física y sedentarismo:

La inactividad física y el sedentarismo son factores que contribuyen con una tasa muy alta en la presentación de una enfermedad coronaria, ya que a éstos se le suman factores como padecer de sobrepeso u obesidad, HTA, diabetes mellitus y baja concentración de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (11). En la actualidad, las conductas sedentarias que reducen una demanda en el gasto energético biológico, se manifiestan en mayor medida, siendo nuestro entorno y realidad, tanto física como social, los causantes, ya que los cambios se han presentado principalmente en la forma en la que nos movemos, comunicamos o entretenemos por la creciente evolución en el transporte, las formas de trabajo y las tecnologías de ocio y comunicación (11). Por las razones descritas con anterioridad, es de mera importancia realizar actividad física, ya que se ha demostrado que la actividad física contribuye entre 20 a 30% en la disminución de riesgo de infarto y existen estudios que demuestran que realizar diferentes tipos de actividad física pueden contribuir con efectos cardioprotectores (12).

- Obesidad y sobrepeso:

La obesidad y el sobrepeso son considerados como los factores de riesgo de más alta prevalencia en la población mundial, ya que están directamente relacionados con la posibilidad de padecer una enfermedad cardiovascular (11, 12). El sobrepeso y la obesidad pueden causar aterosclerosis mediante mecanismos bien descritos como la dislipidemia, la hipertensión y el desarrollo de diabetes.

Actualmente se conocen otros factores que contribuyen de manera directa en la patogénesis de la aterosclerosis como la formación de los depósitos de grasa en áreas con conexión directa al sistema cardiovascular, la inflamación subclínica, la

activación neurohormonal con aumento de actividad simpática, altas concentraciones de leptina e insulina y la apnea obstructiva del sueño (11).

- Dislipidemia:

La dislipidemia, está definida como la elevación en la concentración lipídica en sangre y la variabilidad de lípidos está determinada por factores ambientales, como la dieta o factores endógenos que actúan principalmente en el metabolismo de dichas moléculas. Niveles elevados de lipoproteínas de baja densidad y triglicéridos son los principales factores de riesgo para la presentación de un infarto agudo de miocardio y a éstos, se suma la posibilidad de presentar niveles muy bajos de lipoproteínas de alta densidad, lo que propiciaría la formación de un ateroma (11, 12).

- Diabetes mellitus:

La diabetes es una condición crónica, subdividida en varios tipos de afecciones, destacando la diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2, que cuentan con características únicas, pero de manera general, en las dos existe la presencia de un estado hiperglucémico, lo que provoca un aumento en la producción de lípidos y en el caso de la diabetes tipo 2, al inicio de la condición, hay sobreproducción de insulina, lo que induce un aumento en la producción de triglicéridos y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL); otra característica del trastorno, es la acumulación de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) en las paredes arteriales, el cual, se glicosila y oxida, propiciando así, la formación de una placa aterosclerótica y el aumento en el riesgo de ruptura, lo que derivaría en la oclusión de una arteria y la presentación de un IAM (11). Se sabe que los pacientes que padecen diabetes presentan una mayor vulnerabilidad ante la posible ruptura de la placa aterosclerótica en comparación de los pacientes que no presentan la condición; por otra parte, al presentar diabetes mellitus tipo 1 o 2, los efectos cardioprotectores en la mujer mencionados en el apartado del sexo, se pierden (12).

- Tabaquismo:

Junto con la obesidad y el sobrepeso, el tabaquismo cuenta con un índice elevado de prevalencia en el mundo y representa el mayor factor de riesgo para infarto agudo de miocardio, aterosclerosis prematura, accidentes cerebrovasculares, insuficiencia renal y muerte cardíaca súbita (12, 18); en relación a los no fumadores, los fumadores pueden presentar un evento coronario de manera anticipada, aproximadamente, 10 años antes. En el tabaco, se tienen identificadas dos principales sustancias ligadas con el desarrollo de SCA, el monóxido de carbono (CO) y la nicotina (C₁₀H₁₄N₂), las cuales actúan sobre el sistema nervioso autónomo, propiciando la liberación de catecolaminas, la agregación plaquetaria, alteración en el metabolismo lipídico, con el incremento de LDL sérico y triglicéridos, promoviendo un daño oxidativo al LDL mediante radicales libres y su posterior acumulación en las paredes arteriales. La nicotina, actúa sobre el sistema nervioso simpático, mediante la liberación de dopamina (17), incrementando la presión y frecuencia cardíaca, este aumento desemboca en una mayor demanda de oxígeno por parte de los miocitos y otras células y en conjunto con algún otro factor de riesgo esto derivaría con una muy alta probabilidad en un IAM (11 y 12). Algunas investigaciones refieren que el fumar contribuye a la inflamación vascular característica de la aterosclerosis, ya que se han encontrado concentraciones séricas elevadas de proteína C reactiva (12).

- Hipertensión:

La hipertensión, ya sea sistólica o diastólica, se considera un factor de riesgo muy alto de infarto, ya que puede acelerar la progresión de la aterosclerosis mediante el incremento en la tensión tangencial en las placas de ateroma, lo que provocaría su ruptura, y la disminución de la perfusión sanguínea tendría efectos negativos en la función miocárdica (11 y 12).

- Consumo de alcohol:

El consumo de alcohol, está catalogado como un factor de riesgo alto de infarto; sin embargo existe una propuesta, que indica que el consumir alcohol de manera

moderada provee de un efecto cardioprotector o un bajo riesgo de sufrir un evento cardiovascular (11, 12). Los mecanismos por los cuales dichos efectos se pueden explicar, son la reducción de fibrinógeno, el incremento de HDL, apo-A1 y la adiponectina (11, 12), la cual estimula la oxidación de los ácidos grasos, reduce la concentración de triglicéridos y cuenta con propiedades antiapoptóticas (19); también se habla de un aumento en la cantidad de prostaciclina, lo que propiciaría la inhibición de la agregación plaquetaria, evitando así la formación de trombos (12). Por otro lado, el consumo excesivo de alcohol, provoca la elevación en la concentración de LDL y triglicéridos, el incremento en el ritmo cardíaco y la presión arterial, lo que causaría aterogénesis, la ruptura de la placa y un estado anóxico provocando daño en miocitos y el sistema cardiovascular (11, 12).

- Estrés:

El estrés crónico, el estrés psicológico agudo, la ansiedad y el aislamiento social, pueden aumentar el riesgo de SCA y accidente cerebrovascular. Estas condiciones, sumadas a un estrés hemodinámico, pueden desencadenar la ruptura de una placa y la trombogénesis (12).

- Gota:

La gota, al ser un padecimiento donde hay un estado de inflamación crónico, éste juega un papel importante en la iniciación y progresión de la aterosclerosis, ya que existe la promoción de un ambiente pro-trombótico, favoreciendo así la presentación de un evento isquémico (12).

c) Factores de riesgo emergentes.

Existen otros factores que predisponen a una persona a sufrir una cardiopatía isquémica, su prevalencia es menor en comparación con los mencionados anteriormente; sin embargo, su importancia cada vez es mayor, por lo que son considerados factores de riesgo emergentes.

- Homocisteinemia:

En la homocisteinemia, los grupos sulfidrilo de la homocisteína libre, median la formación de radicales libres, los cuales causan un daño tanto celular como oxidativo a las lipoproteínas de baja densidad, lo que favorecería su acumulación en la pared arterial, teniendo el mismo mecanismo presentado en el consumo excesivo de alcohol y el tabaquismo (11).

- Enfermedades periodontales:

Al igual que la gota, son un grupo de enfermedades caracterizadas por la respuesta inflamatoria, pero en este caso el agente etiopatogénico, es una o varias bacterias (*Tannerella forsythia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*) o sus productos biológicos y el riesgo de sufrir un evento isquémico, depende más del alcance que tenga el sistema inmune para contener la infección (12, 20).

Capítulo II

2. Vesículas extracelulares

Al referirnos de manera general a las vesículas extracelulares (EVs, por sus siglas en inglés) hablamos de un mecanismo de comunicación intercelular, ya que permiten transferir información hacia otras células influyendo en su función (29-31); cuando se descubrieron se pensó que el único propósito que tenían era fungir como mecanismo de desecho de compuestos del metabolismo pero después de años de investigación y observaciones se sabe que participan como vehículos de señalización en procesos homeostáticos, y en el desarrollo de patologías (29), ya que poseen la capacidad de intercambiar biomoléculas tales como lípidos (esfingomielina y colesterol), proteínas (citosólicas o de membrana) y ácidos nucleicos (DNA y RNA) (28-31). El término de “EVs”, fue acuñado por la Sociedad Internacional de Vesículas Extracelulares o ISEV (91) para describir aquellas vesículas que se encuentran unidas a la membrana lipídica, que son secretadas de manera conservada hacia el espacio extracelular y se tiene evidencia que dichos cuerpos son liberados por organismos procariontes, eucariotes superiores y plantas (29, 31).

2.1 Clasificación

Existen tres tipos de estructuras catalogadas como vesículas extracelulares: exosomas, microvesículas y cuerpos apoptóticos, las cuales cuentan con características propias y son clasificadas principalmente por el mecanismo de biogénesis que poseen, aunque también son clasificadas dependiendo de su tamaño, origen celular y función biológica (28, 29); a continuación, abordaremos dichas estructuras:

2.1.1 Exosomas

Los exosomas son cuerpos de 30 a 150 nm, compuestos por una sola membrana externa y son derivados del sistema endolisosómico (28, 29). Debido al mecanismo de biogénesis también son conocidos como vesículas intraluminales (ILVs, por sus siglas en inglés) (28, 29). La primera vez que se observó un exosoma, fue durante su liberación al espacio extracelular por parte de un reticulocito que se estaba diferenciando a un eritrocito maduro (29, 30, 32); en la actualidad se tiene registro que los exosomas son estructuras que están presentes en células tales como linfocitos B, células dendríticas, linfocitos T citotóxicos, plaquetas, mastocitos, neuronas, oligodendrocitos, células de Schwann y células epiteliales intestinales (29, 30).

El origen de los exosomas da comienzo con la formación de un endosoma temprano (28, 30, 32), mediante la gemación interna de la membrana plasmática; el endosoma temprano madura hasta un endosoma tardío (32), donde se lleva a cabo una serie de gemaciones en el lumen endosomal, gracias a la limitación espacial por tetraspaninas, lo que convierte al endosoma tardío en un cuerpo multivesicular (MVB, por sus siglas en inglés) durante el proceso (28-32). En la **Figura 4** se muestra el mecanismo biogénico descrito. Los MVBs son enviados al lisosoma para su degradación o su fusión con la membrana plasmática (28, 32), esto depende del contenido de los mismos, ya que, si el contenido es destinado para degradación, éste se fusionará con el lisosoma y en el caso contrario, se llevará a cabo la fusión con la membrana, con el fin de liberar su contenido, incluyendo a los exosomas hacia el espacio extracelular (28, 32), mediante SNAREs. La regulación del proceso biogénico y liberación está dirigida por un complejo proteico llamado complejo de clasificación endosomal necesario para el transporte o ESCRT (por sus siglas en inglés) (28-32), que cuenta con 4 proteínas principales (-0, -I, -II, y -III) y proteínas accesorias como ALIX y VPS4 (29, 30); actualmente se conocen 2 vías para la formación de los exosomas, la vía ESCRT dependiente y la vía ESCRT independiente (29, 30).

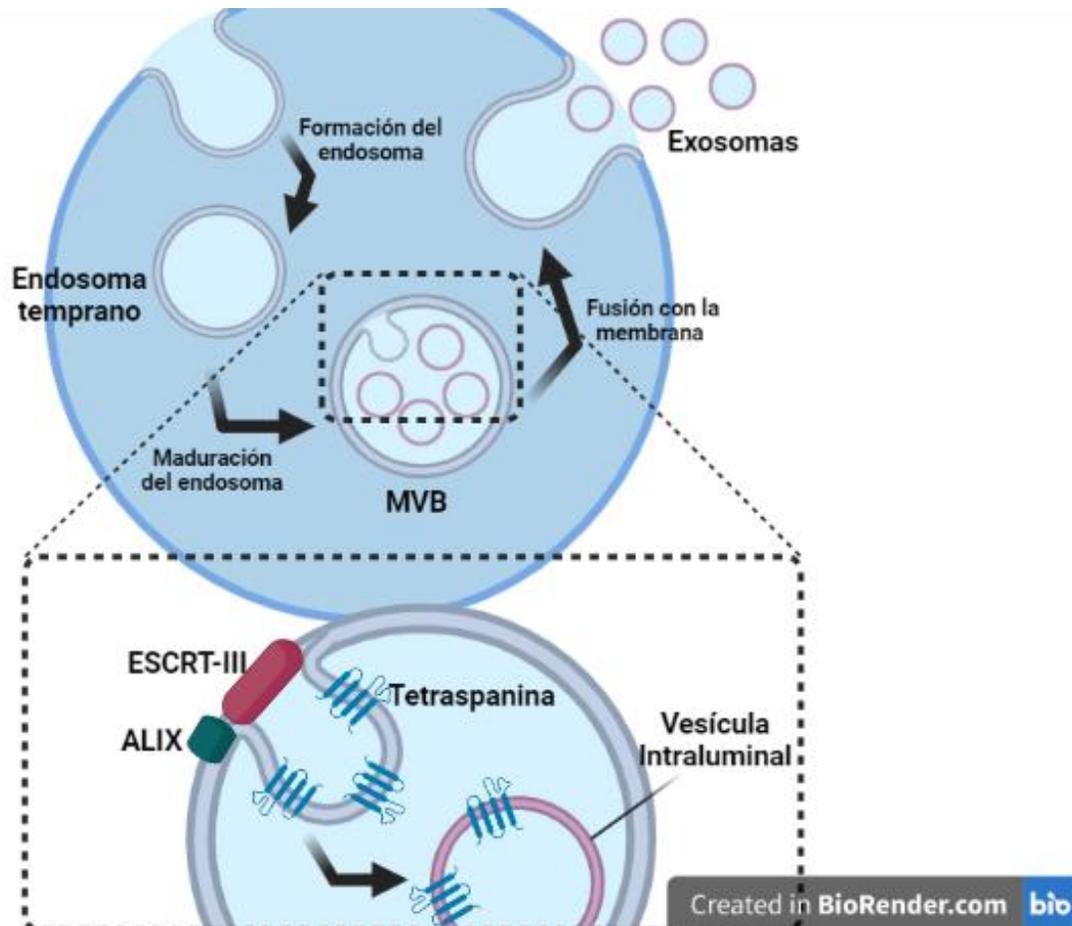


Figura 4. Biogénesis de exosomas. El proceso comienza con la formación de un endosoma temprano, que madura hasta un endosoma tardío, donde las tetraspaninas limitan el espacio en la membrana plasmática endosomal y se originan las vesículas intraluminales (ILVs). El complejo ESCRT-III junto a su proteína accesoria, ALIX, se encargan de la liberación de las ILVs dentro del endosoma, sin importar la vía de biogénesis seguida. El endosoma tardío madura hasta ser un MVB, que se fusiona con la membrana plasmática de la célula y libera a las vesículas intraluminales (exosomas) hacia el espacio extracelular. MVB: cuerpo multivesicular; ESCRT-III: complejo de clasificación endosomal necesario para el transporte III; ALIX: proteína X que interactúa con manosiltransferasa ALG-2. Imagen creada a partir de las referencias: 28-32. Imagen creada en <https://biorender.com/>.

Ahora bien, la biogénesis de los exosomas puede ser usada como base para entender su composición; al ser cuerpos derivados del sistema endolisosómico (28, 29), contienen proteínas y otras biomoléculas asociadas al endosoma o el MVB. Al originarse dentro del endosoma tardío, cuentan con una alta composición de glicoproteínas (28) y lípidos (30). En la **Tabla 1** se presenta su composición membranaral.

Tabla 1. Composición de la membrana exosómica.

Componente	Biomolécula	Referencia
Organizadores membranales	Tetraspaninas (CD9, CD81, CD63, CD151, CD53, TSPAN6, TSPAN8), Flotilina 1 y 2.	28 – 31
Lípidos	Colesterol, fosfatidilserina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, esfingomiélinea, hexosilceramidas, LBPA.	29 – 31
Moléculas de adhesión	Integrinas, lactoadherina, ICAM.	29, 31
Tráfico intracelular	RAB, GTPasas, anexinas	29, 30
Proteínas específicas de tipo celular	MHC-I y –II, APP, PMEL, TCR, FasL, CXCR4, HSP6, CD86, PrP, TFR, WNT.	29, 31

CD: clúster de diferenciación; TSPAN: tetraspanina; LBPA: ácido lisobisfosfatídico; ICAM: moléculas de adhesión endoteliales; RAB: proteína de unión asociada a Ras; MHC: complejo mayor de histocompatibilidad; APP: proteína precursora amiloidea; PMEL: proteína de melanocitos; TCR: receptor de linfocitos T; FasL: ligando de Fas; CXCR: receptor de quimiocinas C-X-C; HSP: proteína de choque térmico; PrP: proteína priónica; TFR: receptor de transferrina; WNT: proteínas Wingless e Int.

En la **Tabla 2**, se presenta la composición del lumen exosomal, donde se pueden encontrar algunas proteínas del complejo ESCRT y sus proteínas accesorias, sin importar qué vía se haya seguido para la formación de los exosomas y son consideradas como marcadores proteicos para exosomas (28).

Tabla 2. Composición del lumen exosomal.

Componente	Biomolécula	Referencia
Enzimas	Peroxidasas, piruvato cinasa, enolasa, GAPDH.	29
Transducción de señales	Protein cinasa, β -catenina, proteínas 14-3-3, proteínas G.	29, 31
Factores de biogénesis	ALIX, TSG101, sintenina, ubiquitina, clatrina, VPS32, VPS4, proteínas del complejo ESCRT.	28 – 31
Chaperones	HSP70, HSP90.	29
Ácidos nucleicos	DNA, DNAm, DNAds, RNAm intacto y fragmentos, RNA largo no codificante, microRNAs, piwiRNA, RNAr, RNAt, RNA <i>vault</i> , YRNA	29 - 31

GAPDH: gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa; ALIX: proteína X que interactúa con manosiltransferasa ALG-2; TSG101: proteína del gen 101 de susceptibilidad tumoral; VPS: proteína asociada a la clasificación de proteínas vacuolares; ESCRT: complejo de clasificación endosomal necesario para el transporte; HSP: proteína de choque térmico; DNAm: DNA mitocondrial; DNAds: DNA de doble hebra; RNAm: RNA mensajero; RNAr: RNA ribosomal; RNAt: RNA de transferencia; RNA *vault*: RNA bóveda.

Se ha observado que los exosomas desempeñan papeles biológicos variados y se tienen registros de su participación en la homeostasis celular, la progresión de tumores, maduración de reticulocitos, estimulación del sistema inmune mediante la presentación de antígenos (en su composición se encuentra el complejo mayor de histocompatibilidad de clase I y II (29, 31)), la inhibición o activación de células inmunes (un ejemplo: exosomas acarreadores de HPS70 para activar linfocitos NK) y la capacidad de eliminar agentes bacterianos (31). En el sistema nervioso promueven la formación de mielina, el crecimiento de neuritas y promueven la

supervivencia neuronal. En otros tejidos tienen un rol importante en la regeneración y reparación tisular y actualmente se ha estudiado su capacidad cardioprotectora (28, 31).

2.1.2 Microvesículas

Las microvesículas, son cuerpos con tamaños de 50 nm a 1 μm , que al igual que los exosomas, están compuestas por una sola membrana externa. Cuando las microvesículas fueron descubiertas se les dio el nombre de polvo plaquetario, ya que se describieron como material subcelular de plaquetas, y ahora se sabe que las microvesículas son liberadas por muchas células. Un ejemplo de ello son las células cancerosas; se ha reportado que las microvesículas provenientes de dichas células tienen una variación en el tamaño comparado con microvesículas de células sanas ($\approx 10 \mu\text{m}$) (29).

Las microvesículas se forman a partir de la gemación externa de la membrana plasmática (28-32) y al igual que en los exosomas, la limitación espacial en la membrana está dada por tetraspaninas (29). Los datos disponibles sugieren que existen dos vías para la formación de las microvesículas donde participan algunos componentes moleculares como actina, microtúbulos, miosina, SNAREs, factores de anclaje (28, 29) y reordenamientos en la membrana plasmática, como la redistribución del citoesqueleto y los fosfolípidos mediante flipasas, flopasas y escramblasas (29, 32, 34-36). El primer mecanismo (Ver **Figura 5A**) dicta que la formación de las microvesículas se presenta en células sanas activadas y es inducida por la translocación de la fosfatidilserina y la esfingomielinina desde la cara interna de la membrana plasmática hacia la cara externa de la membrana por medio de una flipasa y la contracción del citoesqueleto mediante el complejo actina-miosina inducido por ARF6 (29, 32, 34, 35, 36) y para finalizar el proceso de gemación y liberación de la microvesícula, la calpaína, una proteasa dependiente de calcio, escinde el citoesqueleto (29, 34). El segundo mecanismo (Ver **Figura 5B**), se presenta en células con estadio apoptótico temprano o células tumorales, donde, al igual que en el primer mecanismo, la formación de la gema se produce por las tetraspaninas y reordenamientos en la membrana mediante las fosfolípidos

translocasas (29, 32, 34, 35, 36), y la liberación de las microvesículas dependerá de la proteína cinasa asociada a Rho o ROCK (por sus siglas en inglés), que induce la contracción del citoesqueleto mediante la actomiosina (29, 34, 36); si la célula se encuentra en estadio oncológico, las microvesículas liberadas al espacio extracelular, tendrán el nombre de oncosomas.

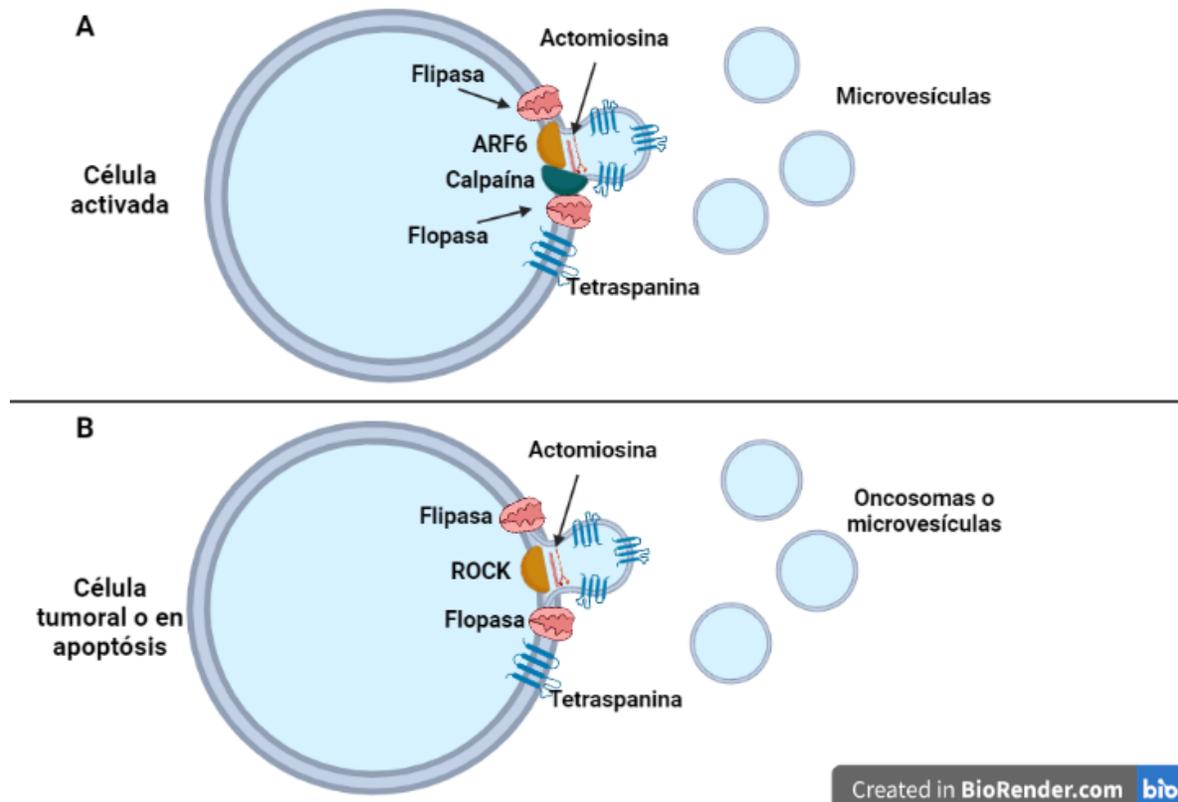


Figura 5. Biogénesis de microvesículas. A) Biogénesis en células activadas. La limitación espacial de la membrana se da por tetraspaninas y se forma la gema a partir de una brotación externa en la membrana plasmática, gracias a la flipasa y flopasa, que inducen la translocación de lípidos de membrana tales como fosfatidilserina y esfingomiélin. Para finalizar el proceso la proteína ARF6 induce la contracción del citoesqueleto mediante el complejo actomiosina y la calpaína corta el citoesqueleto para liberar a la microvesícula. **B) Biogénesis en células tumorales o en apoptosis temprana.** El proceso biogénico es parecido al presentado en el punto A, donde la limitación espacial se da gracias a las tetraspaninas y el reordenamiento fosfolipídico en la membrana plasmática mediante la flipasa y flopasa y la liberación de la microvesícula es inducida por la contracción del citoesqueleto mediante la proteína ROCK. ARF6: Factor 6 de ADP-ribosilación; ROCK: proteína cinasa asociada a Rho. Imagen creada a partir de las referencias: 29, 32, 34-36. Imagen creada en <https://biorender.com/>.

Según varios autores, el número de microvesículas liberadas al espacio extracelular depende del estado físico de la célula y del microambiente presente al que esté sometido la célula (28).

La biogénesis de las microvesículas, al igual que la de los exosomas, ayuda a entender el porqué de su composición; al provenir de la membrana plasmática, las microvesículas contienen proteínas citosólicas y asociadas a la membrana (28). Algo que es importante destacar es la similitud en la composición de los exosomas y las microvesículas, donde el proceso biogénico es el que dicta las diferencias entre estas estructuras, ya que en el caso de las microvesículas se identifican proteínas provenientes del citoesqueleto (28, 29). En la **Tabla 3** se presenta su composición membranal y en la **Tabla 4** la composición del lumen microvesicular.

Tabla 3. Composición de la membrana microvesicular.

Componente	Biomolécula	Referencia
Organizadores membranales	Tetraspaninas (CD9, CD81, CD82).	28 – 31
Lípidos	Fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, esfingolípidos.	29 – 31
Adhesión a la matriz celular	Integrinas, PECAM1, fibronectina.	29
Tráfico intracelular	RAB, GTPasas, anexinas.	29, 30
Proteínas específicas de tipo celular	MHC-I, LFA1, CD14.	29

CD: clúster de diferenciación; PECAM: molécula de adhesión de células endoteliales plaquetarias; RAB: proteína de unión asociada a Ras; MHC: complejo mayor de histocompatibilidad; LFA: antígeno asociado a la función de linfocitos.

En las microvesículas también se han encontrado proteínas del complejo ESCRT y sus proteínas accesorias, ya que algunos autores proponen que dichas proteínas participan en la biogénesis de estos cuerpos vesiculares (29).

Tabla 4. Composición del lumen microvesicular.

Componente	Biomolécula	Referencia
Material citoplasmático	TDP43, GAPDH.	29
Moléculas de señalización	ARF6, RAB11, ROCK	29
Factores de biogénesis	ALIX, TSG101, PLD, VPS4, proteínas del complejo ESCRT.	28 – 31
Chaperones	HSP70, HSP90.	29
Moléculas del citoesqueleto	Actina y tubulina.	28, 29
Ácidos nucleicos	DNA, DNAm, DNAds, RNAm intacto y fragmentos, RNA largo no codificante, microRNAs, piwiRNA, RNAr, RNAt, RNA <i>vault</i> , YRNA	29 – 31

TDP: proteína Tar de unión al DNA; GAPDH: gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa; ARF6: factor 6 de ADP-ribosilación; RAB: proteína de unión asociada a Ras; ROCK: proteína quinasa asociada a Rho; ALIX: proteína X que interactúa con manosiltransferasa ALG-2; TSG101: proteína del gen 101 de susceptibilidad tumoral; PLD: fosfolipasa D; VPS: proteína asociada a la clasificación de proteínas vacuolares; ESCRT: complejo de clasificación endosomal necesario para el transporte; HSP: proteína de choque térmico; DNAm: DNA mitocondrial; DNAds: DNA de doble hebra; RNAm: RNA mensajero; RNAr: RNA ribosomal; RNAt: RNA de transferencia; RNA *vault*: RNA bóveda.

Un dato interesante acerca del contenido proteico de las microvesículas es que se tienen registros sobre su capacidad de contener una concentración de proteínas mayor que un lisado celular (28).

Las microvesículas comparten algunas funciones biológicas con los exosomas como la comunicación celular, mantenimiento de la homeostasis, progresión tumoral, estimulación inmune (mediante MHC de tipo I), inhibición o activación de células del sistema inmune y cuentan con capacidad bactericida (28, 31). Entre otras funciones inmunes de las microvesículas, se encuentra la promoción de inflamación (inducción de la secreción de TGF- β) y fungir como antagonistas de receptores de reconocimiento de patrones (31). Por lo anterior, y por su capacidad

de alterar la función de la célula blanco con la que entra en contacto, las microvesículas han despertado un gran interés alrededor del mundo ya que se piensa que cuentan con un gran potencial terapéutico y diagnóstico (28). Por otra parte actualmente también se tiene información acerca de su participación como agentes pro-coagulantes y pro-angiogénicos en el sistema cardiovascular (31).

2.1.3 Cuerpos apoptóticos

Los cuerpos apoptóticos o apoptosomas, son estructuras que cuentan con un tamaño de 50 nm a 5 μ m (28, 32, 33). Mientras que los exosomas y las microvesículas son liberados en procesos homeostáticos celulares, los apoptosomas sólo se liberan cuando una célula entra en el estadio de muerte celular programada (32) y son las estructuras más abundantes en comparación con los antes mencionados (33).

El estadio apoptótico de una célula comprende varias fases, iniciando con la condensación del material genético, la división nuclear y aparición de micronúcleos, la división del contenido celular hasta finalizar en la formación de una ámpula que contiene parte del contenido celular, al que llamamos cuerpo apoptótico (28, 32, 33). De acuerdo a la información disponible, la contracción del citoesqueleto mediante el complejo actina-miosina (32) genera un incremento en la presión hidrostática de la célula en cuestión, lo que induce un proceso de vesiculación y formación de ampollas (apoptosomas) y su posterior separación del citoesqueleto (28) (Ver **Figura 6**).

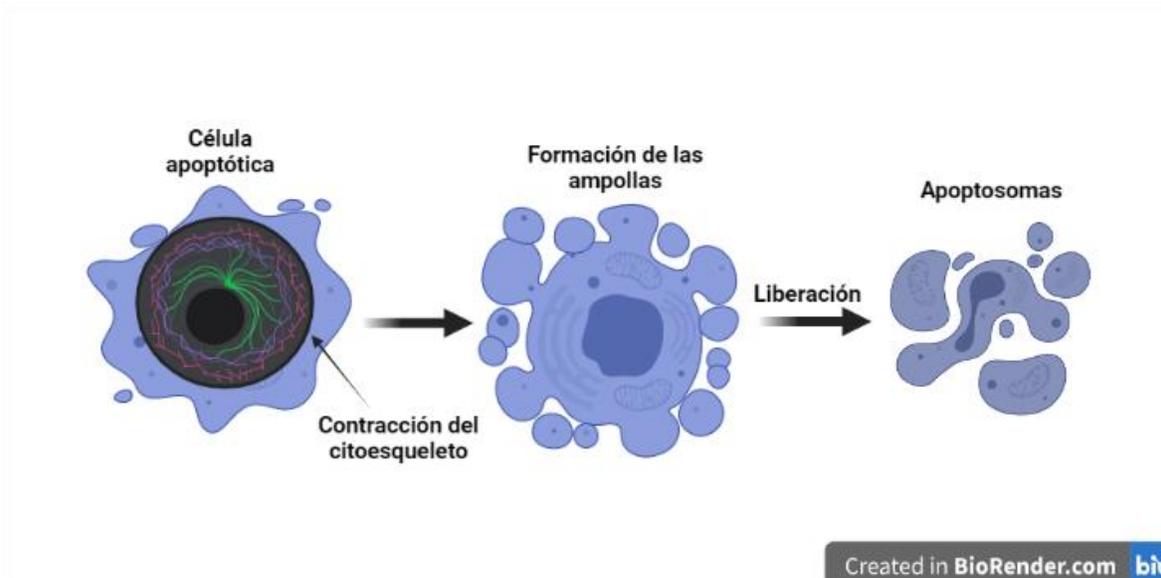


Figura 6. Biogénesis de cuerpos apoptóticos. La formación de los apoptosomas inicia con una célula en estadio de muerte, donde, después de la división del contenido celular, el complejo actina-miosina, presente en el citoesqueleto, induce la contracción del mismo, generando ampollas, donde se deposita parte del contenido celular y por acción de la contracción, también se lleva a cabo la liberación de estas ampollas (apoptosomas). Imagen creada a partir de las referencias: 28, 32, 33. Imagen creada en <https://biorender.com/>.

La composición de los cuerpos apoptóticos en comparación a las dos vesículas extracelulares presentadas anteriormente es muy diferente, presentando niveles más altos de RNA (33), micronúcleos, organelos celulares intactos, porciones citosólicas, restos de cromatina, proteínas glicosiladas o degradadas y proteínas asociadas al núcleo, la mitocondria, aparato de Golgi y el retículo endoplasmático (28, 33).

Los apoptosomas son considerados como “sacos sellados” ya que, al contener biomoléculas cuentan con la capacidad de entregar dichos materiales, mediante su captación por otras células (un ejemplo: autoantígenos) (33). Al igual que los exosomas y las microvesículas, los cuerpos apoptóticos también cuentan con la capacidad de regular la comunicación intercelular mediante microRNAs y el DNA que contienen (32, 33).

Capítulo III

3. MicroRNAs

Los RNAs pequeños no codificantes son usados de manera conservada para regular eventos celulares y de desarrollo en organismos eucariontes (37-41). Existen 4 tipos de estos RNAs: RNA pequeño de interferencia (siRNA), RNA pequeño de interferencia asociado a repetición (rasiRNA), RNA que interactúa con piwi (piwiRNA) y los microRNA (miRNA) (38, 39). Estos últimos, constituyen el tipo de RNA dominante en muchos tejidos y comprenden del 1 al 3% del genoma humano (38, 39). A continuación abordaremos con más detenimiento dicha molécula.

3.1 Definición

Los microRNAs son ácidos nucleicos con una longitud de ≈ 22 nucleótidos y son reguladores negativos post-traduccionales de la expresión génica (37-44). Los microRNAs, son moléculas críticas para el correcto desarrollo humano y animal, ya que, están involucrados en distintos procesos homeostáticos y fisiológicos, por lo que una expresión aberrante se puede asociar con distintas patologías (37, 40, 41, 43); al ser secretados hacia los fluidos extracelulares, actualmente se ha reportado su potencial como biomarcadores de diagnóstico del estado de salud de los pacientes y de enfermedades (40, 42) como cáncer (39, 42) o enfermedades neurodegenerativas (39), y de procesos de diferenciación y autorrenovación celular (41). Los microRNAs no sólo son reguladores de la expresión génica, sino también funcionan como moléculas de señalización intercelular (40).

3.2 Origen o formación

El origen de los microRNAs, se encuentra en distintos genes repartidos en el genoma humano tanto en posiciones intra como intergénicas y son resultado de procesos evolutivos de regulación genética (40,41), dicho de otra forma, los microRNAs intragénicos, comúnmente son procesados de regiones intrónicas y de manera menos común de regiones exónicas de genes que codifican para proteínas y los microRNAs provenientes de regiones intergénicas de un gen huésped son regulados por su propio promotor y son considerados transcritos independientes (40, 42). El microRNA, dentro de su estructura cuenta con una región de 2-7 nucleótidos, llamada “región semilla” (39, 41), que es crucial para el reconocimiento de la secuencia del RNA mensajero (mRNA) blanco. Se ha descrito que los microRNAs que cuentan con una región semilla similar, son considerados una familia y pertenecen a un solo transcrito largo, llamado clúster (37, 39, 41, 42).

Ahora bien, la biogénesis de los microRNAs es efectuada en el compartimento nuclear y citoplasmático de la célula (38, 40-44) y se puede llevar a cabo en dos vías, la vía canónica y la no canónica (38-41, 43, 44). La vía canónica comprende el procesamiento del transcrito de DNA en microRNA primario (pri-miRNA), posteriormente a microRNA precursor (pre-miRNA) hasta obtener una secuencia de microRNA maduro (Ver **Figura 7**) (38-41, 43, 44). La vía canónica comienza con la transcripción de la secuencia de DNA por parte de la RNA polimerasa II (RNA Pol II) en el núcleo, donde el resultado es una molécula larga de RNA poliadenilada en el extremo 3' y metiladenilada en el extremo 5' (N6-metiladenosina) que cuenta además, con *loops* (horquillas) y protuberancias que forman desajustes en la complementariedad del RNA (39-44), esta molécula es denominada pri-miRNA. Los pri-miRNAs se procesan mediante un complejo llamado “microprocesador” formado por la enzima RNAsa III endoribonucleasa nuclear de tipo III específica de RNA bicatenario (RNASEN) (41) o mejor conocida como DROSHA y su cofactor, la proteína de unión a RNA de la región crítica 8 del síndrome de DiGeorge (DGCR8) (40-44), donde DGCR8 reconoce los extremos GGAC N6-metiladenilados (40) y DROSHA escinde dichos extremos, además

corta el extremo poliadenilado, resaltando la formación de un saliente de 2 nucleótidos en 3' (40-44), dicho proceso da como resultado la formación de pre-miRNA. Una vez generado el microRNA precursor, es exportado hacia el citoplasma mediante el complejo proteico formado por la exportina 5 y la GTPasa Ran (XPO5/RAN-GTP) (40-44). Una vez en el citoplasma los pre-miRNAs son procesados por la enzima RNAsa III endoribonucleasa citoplasmática con actividad de corte de RNA bicatenario o DICER1 (40-44) y la proteína de unión a RNA sensible a la transactivación (TARBP2) o TRBP; DICER1 interactuando con la proteína TRBP, escinde la secuencia *loop* terminal del microRNA precursor y resalta salientes de 2 a 3 nucleótidos en ambos extremos 3' de la molécula bicatenaria de miRNA, las moléculas resultantes son llamadas miRNA dúplex o miRNA maduro (40-44).

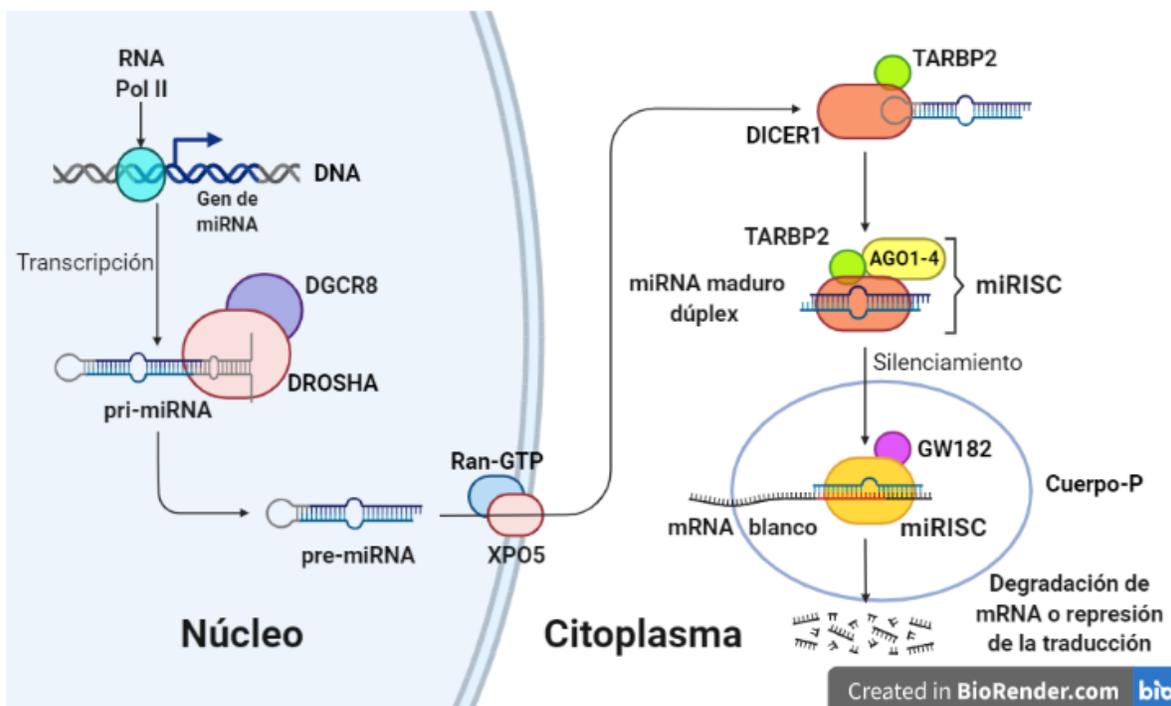


Figura 7. Biogénesis de miRNAs por la vía canónica. El proceso comienza con la transcripción del gen que codifica para miRNA, mediante la enzima RNA Pol II. El pri-miRNA resultante es procesado por el complejo DROSHA/DGCR8 para eliminar las ediciones post-transcripcionales hasta formar el pre-miRNA. XPO5/Ran-GTP exporta el pre-miRNA del núcleo al citoplasma y es procesado por DICER1/TARBP2, para eliminar el *loop* terminal y obtener un miRNA maduro. La biogénesis culmina con la asociación de DICER1/TARBP2 y las proteínas AGO (1-4) para formar el complejo miRISC. El silenciamiento se da en una estructura citoplasmática denominada cuerpo-P, donde el complejo miRISC se asocia a GW182 para llevar a cabo el silenciamiento mediante la degradación del mRNA o la represión de su traducción. RNA Pol II: RNA polimerasa II; DGCR8:

proteína de unión a RNA de la región crítica 8 del síndrome de DiGeorge; DROSHA: RNAsa III endoribonucleasa nuclear de tipo III específica de RNA bicatenario; pri-miRNA: microRNA primario; pre-miRNA: microRNA precursor; Ran-GTP: GTPasa Ran; XPO5: exportina 5; DICER1: RNAsa III endoribonucleasa citoplasmática con actividad de corte de RNA bicatenario; TARBP2: proteína de unión a RNA sensible a la transactivación; AGO1-4: proteínas Argonautas 1-4; miRNA: microRNA; miRISC: complejo de silenciamiento inducido por miRNA; GW182: proteína Glicina-Triptófano de 182 kDa; mRNA: RNA mensajero. Imagen creada a partir de las referencias: 39-44. Imagen creada en <https://biorender.com/>.

Por otra parte, hasta la fecha se tiene información sobre múltiples vías no canónicas, que hacen uso de las proteínas de la vía canónica en diferentes combinaciones (40, 41, 43), la información disponible dicta que existen vías DROSHA/DGCR8 dependientes/DICER1 independientes, DROSHA/DGCR8 independientes/DICER1 dependientes y DROSHA/DGCR8 independiente/DICER1 independiente (43). Al recordar que algunos miRNAs se localizan en regiones intergénicas mientras que otros en regiones intragénicas, destacamos como ejemplo de la vía no canónica DROSHA/DGCR8 independiente/DICER1 dependiente, la existencia de un miRNA derivado de un loci intragénico, conocido como mirtron, el cual es capaz de generar estructuras parecidas a pre-miRNAs canónicos mediante el uso de la maquinaria del spliceosoma (41, 43, 44). Los mirtrones están localizados en regiones intrónicas de RNAs mensajeros y su biogénesis es independiente del complejo DROSHA/DGCR8 (41, 43, 44) (Ver **Figura 8**). El mirtron producto de las modificaciones efectuadas por el spliceosoma y por las enzimas desramificantes del lazo (41, 43, 44), es llamado mirtron precursor (pre-mirtron) y es equivalente al pre-miRNA por su forma tan particular de dúplex con *loops* y protuberancias. Posterior a su desarrollo, al igual que un pre-miRNA canónico, el pre-mirtron es exportado al citoplasma mediante el complejo XPO5/RAN-GTP, para continuar con su interacción con las proteínas DICER1/TRBP y formar un mirtron maduro, que sería considerado un miRNA maduro (41, 43, 44).

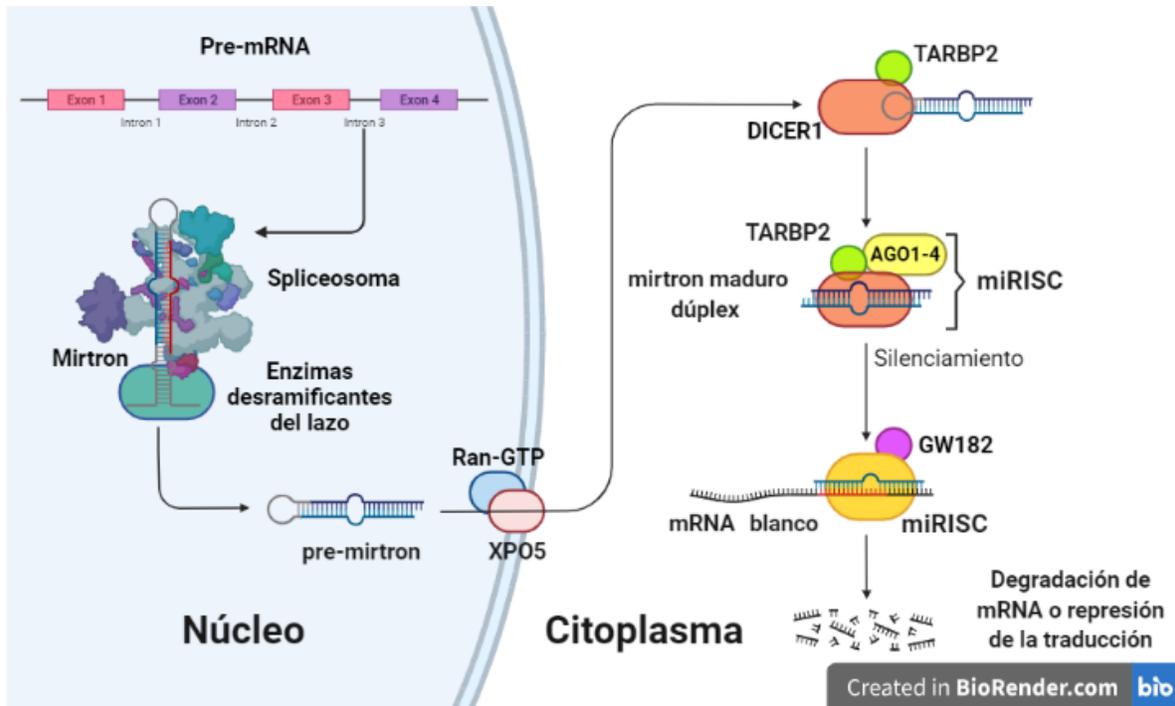


Figura 8. Biogénesis de mirtrones por la vía no canónica. Este proceso comienza el procesamiento de un Pre-mRNA, que contiene en su estructura, en las regiones intrónicas, a los mirtrones, secuencias muy parecidas al pri-miRNA de la vía canónica. El mirtron es procesado mediante el spliceosoma y las enzimas desramificantes del lazo, que escinden las poliadenilaciones del mirtron, resultando un pre-mirtron. XPO5/Ran-GTP exporta el pre-mirtron del núcleo al citoplasma y es procesado de la misma manera que un pre-miRNA canónico. La escisión del *loop* terminal es hecha por DICER1/TARBP2, al cual se asocian las proteínas AGO (1-4) para formar el complejo miRISC. Al igual que en la vía canónica, el complejo miRISC se asocia a GW182 para llevar a cabo el silenciamiento mediante la degradación del mRNA o la represión de su traducción. Pre-mRNA: pre-RNA mensajero; Pre-mirtron: mirtron precursor; Ran-GTP: GTPasa Ran; XPO5: exportina 5; DICER1: RNasa III endoribonucleasa citoplasmática con actividad de corte de RNA bicatenario; TARBP2: proteína de unión a RNA sensible a la transactivación; AGO1-4: proteínas Argonautas 1-4; miRISC: complejo de silenciamiento inducido por miRNA; GW182: proteína Glicina-Triptófano de 182 kDa; mRNA: RNA mensajero. Imagen creada a partir de las referencias: 40-44. Imagen creada en <https://biorender.com/>.

Para finalizar el proceso de biogénesis independientemente de la vía seguida, el miRNA maduro es cargado en el complejo de silenciamiento inducido por miRNA (miRISC) (40-44), el cual está compuesto por DICER1 y TARBP2 que en conjunto con la familia de proteínas argonautas (AGO1-4) desenrollan las hebras del dúplex de miRNA maduro, para poder introducir solo la hebra menos estable del dúplex, llamada hebra guía (40-44) y así inducir el silenciamiento del mRNA blanco (40-44). El silenciamiento es efectuado cuando miRISC, junto con miembros de la familia de proteínas GW182, al contener la hebra guía unida al extremo 3'-UTR del RNA mensajero mediante la región semilla induce la desadenilación y degradación

del mRNA o bloquea su traducción a proteína (39, 40, 42, 43). El silenciamiento es llevado a cabo en los llamados “cuerpos-P” o cuerpos de procesamiento (41, 42), que son cuerpos formados por el proceso de degradación, aunque no son necesariamente requeridos para que este proceso sea llevado a cabo (42).

Capítulo IV

4. Vesículas extracelulares, microRNAs e infarto agudo de miocardio

Las EVs desempeñan diversas funciones, dentro de las cuales destacan la comunicación intercelular y la transferencia de microRNAs (29-31, 45). La información disponible hasta el momento, indica que estas estructuras a lo largo del tiempo han sido estudiadas por su rol de señalización y función como vehículos de microRNAs (28-31), y también por su posible participación terapéutica en IAM (45, 54, 56), resaltando la importancia de los microRNAs que, por su capacidad de unirse a RNA mensajero y promover su degradación o la inhibición de su traducción en proteínas, fueron estudiados mediante modelos animales para ver si existía alguna función de cardioprotección, reportando resultados prometedores (45, 54, 56, 81). Por otra parte, también se tiene información sobre la participación en el agravamiento de la enfermedad por parte de las microvesículas TF+ (31, 36, 54) y de microRNAs como miR-124 (56, 71) y miR-122 (56) (Ver **Figura 9**).

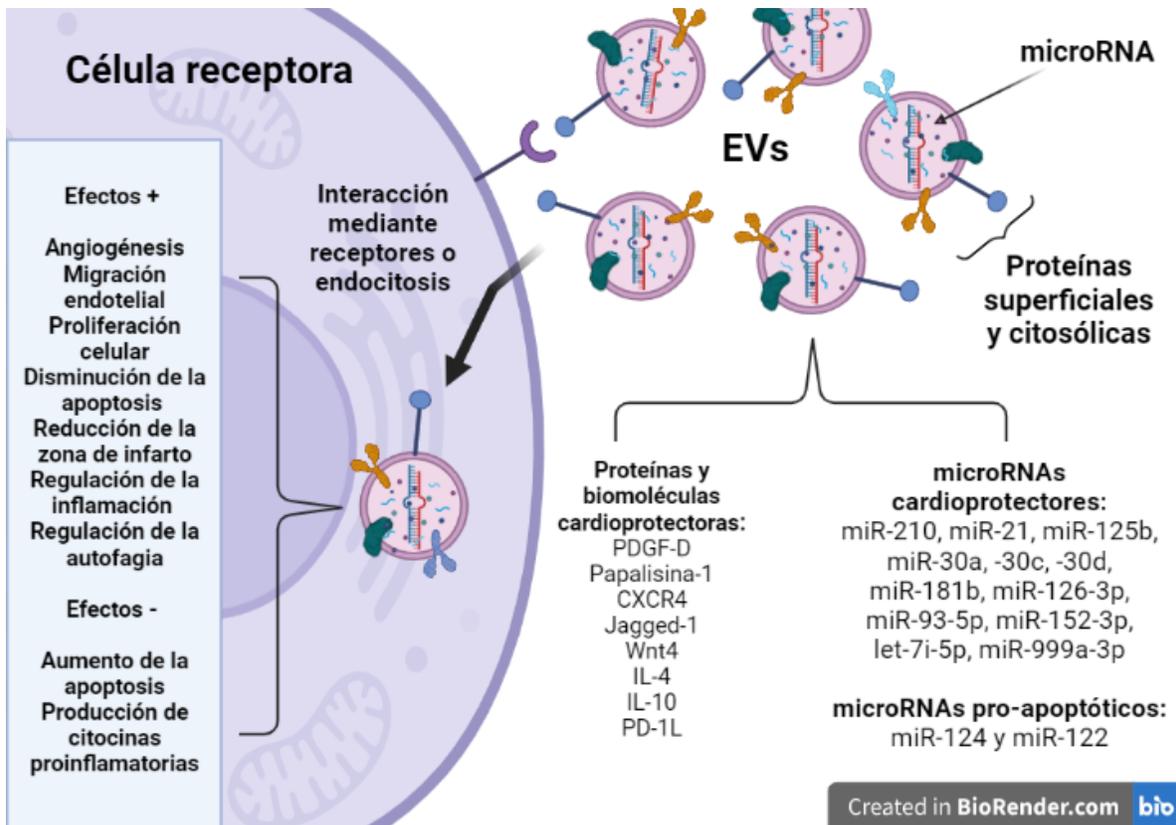


Figura 9. Efectos biológicos de las EVs y los microRNAs en IAM. Esquema representativo del proceso de interacción de las vesículas extracelulares (exosomas, microvesículas o apoptosomas) con la célula receptora mediante receptores o una internalización por endocitosis. Se esquematiza de igual manera el contenido superficial y citosólico de las EVs y cuáles son los efectos biológicos que pueden presentarse posterior a la interacción con las células que conforman el sistema cardiovascular. Imagen creada a partir de las referencias: 45, 47, 56-59, 64, 72, 90. Imagen creada en <https://biorender.com/>.

Las EVs al provenir de vías de biogénesis distintas, cuentan con composiciones de membrana y lumen particulares (28-31), y actualmente se tienen registros sobre algunas proteínas que presentan roles cardioprotectores, promueven la proliferación celular, mejoran la angiogénesis, reducen la apoptosis celular y reducen el tamaño de la zona de infarto (31, 45, 54, 56, 64-67, 72, 73, 90). El factor de crecimiento D derivado de plaquetas (PDGF-D) tiene como objetivo al receptor β de PDGF (PDGFR β); distintos estudios desarrollados en modelos murinos de infarto y modelos celulares, hicieron uso de ratas Sprague-Dawley, las cuales fueron anestesiadas con hidrato de cloral al 10%, donde se procedió con una toracotomía para realizar un ligamiento de la arteria coronaria y evaluar su función cardíaca mediante ecocardiografía; el aislamiento de las EVs se realizó

posterior a un tratamiento de células madre mesenquimales de cordón umbilical (huMSC) con Akt (proteína cinasa B) mediante un sistema de transfección; los estudios destacaron que al activarse PDGFR β , transmite una señal a través de la vía PI3K (fosfoinositol 3-cinasa), que desemboca en la migración de células endoteliales, promoviendo la angiogénesis (45, 56, 66) y mejorando la regeneración cardíaca (66). Se ha observado que en algunas EVs provenientes de células progenitoras residentes en corazón, se expresa la proteína plasmática A asociada al embarazo, también llamada papalisina-1 (45,81), de la cual, se ha demostrado que cuenta con una capacidad cardioprotectora y media la angiogénesis a través de la escisión de la proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 1; éste a su vez activa al receptor del factor de crecimiento insulínico, conduciendo a la fosforilación y activación de Akt, lo que reduce la activación de la vía de caspasas, disminuyendo así la apoptosis de cardiomiocitos (45) y también se observa una fosforilación y activación de ERK1/2, que provoca la proliferación celular y la angiogénesis (45).

Otro componente importante de la membrana de las EVs, mayormente caracterizado en exosomas (29, 31, 91), es el receptor 4 de quimiocinas C-X-C (CXCR4), que en modelos murinos de infarto (ratas hembra Sprague-Dawley, anestesiadas mediante inhalación espontánea de oxígeno e isoflurano 1-2% para realizar una toracotomía y ligar la arteria descendente anterior izquierda), suprime la apoptosis celular mediante la vía PI3K/Akt, promoviendo la proliferación celular, la angiogénesis, la supervivencia celular y reduciendo el tamaño de la zona de infarto (56, 65). También se ha encontrado que algunas EVs provenientes de células endoteliales, expresan Jagged-1, una proteína de superficie que induce la activación de Notch mediante una vía dependiente de HIF-1 α (factor-1 α inducible por hipoxia); este mecanismo desemboca en la proliferación de cardiomiocitos y angiogénesis mejoradas (56, 67).

Otra proteína expresada en las EVs provenientes de células madre mesenquimales, es Wnt4 (proteína 4 Wingless e Int), que se ha descrito que promueve la proliferación y la migración endotelial mediante la vía Wnt4/ β -Catenina (56, 64). En el caso de las proteínas que se encuentran en el lumen de

las EVs, se necesita que éstas alcancen el citoplasma de las células receptoras para inducir un efecto biológico (45). Las EVs, al ser vehículos de diferentes biomoléculas, son capaces de transferir interleucinas; se tiene información sobre la entrega de interleucina 4 y 10 a células T cooperadoras que deprimen su actividad (56, 72), ya que las células Th-1 son agentes importantes en la progresión de la lesión aterosclerótica (21). Ahora bien, algunas EVs expresan el ligando 1 de muerte programada (PD-1L), que al unirse a PD-1, median la actividad de las células T cooperadoras a través de su inmunosupresión y esto contribuye en un retraso en la progresión de la aterosclerosis (56, 73). En contraste, se ha demostrado que algunas EVs, pero de manera mayoritaria las microvesículas provenientes de plaquetas, células endoteliales y leucocitos, expresan TF, el cual es considerado como agente pro-trombótico (31, 36, 54) y también, mediante modelos celulares (EVs secretadas por células progenitoras de rata), se ha reportado que algunas EVs en su lumen contienen una cinasa ligada a integrina que activa la vía de NF- κ B, provocando la producción de citocinas proinflamatorias (45), teniendo un impacto negativo sobre el desarrollo de IAM.

Las EVs no solo cuentan con proteínas citosólicas o superficiales que les confieren la capacidad de incidir de manera positiva o negativa en el IAM, sino también poseen ciertos microRNAs, que se han descrito con posibles capacidades terapéuticas y otros que contribuyen a la progresión de la enfermedad (Ver **Tabla 5**); dos de los microRNAs más estudiados e importantes con la mayor capacidad cardioprotectora, son miR-210 (45, 47, 56-59, 90) y miR-21 (miR-21a-5p) (45, 47, 49, 54), los cuales son regulados por Nanog y HIF-1 α , respectivamente. Se ha reportado que la sobreexpresión de estos dos microRNAs, reduce la muerte celular en respuesta al estrés oxidativo, provocado por las especies reactivas de oxígeno (47, 58) mediante la supresión de la proteína asociada a FLICE (FLASH) y la proteína 2 asociada a la caspasa 8 (Casp8ap2); por su parte, a miR-210 se le atribuye también, la capacidad de inducir angiogénesis (56-59, 90), mediante la regulación de EfnA-3 (Efrina A3) y su unión con VEGF, así como mejorar la función cardíaca y reducir el tamaño de la lesión de infarto (58, 90) en modelos animales. Otros estudios sobre miR-21a-5p, sugieren que este microRNA confiere

cardioprotección (54) a través de regular negativamente la expresión de PDCD4 (proteína 4 de muerte celular programada) y FasL (49), y también se ha observado que al unirse a PTEN y a Peli1, se induce la proliferación celular (49) mediante la vía Akt y Bcl6, respectivamente. Como tercer ejemplo relevante de microRNA con potencial terapéutico en EVs, tenemos a miR-125b (miR-125b-5p) (56, 60, 61, 69), el cual ha sido descrito como potencial biomarcador de IAM (69); se ha observado que tiene un papel en la regulación de la autofagia al tener como objetivo la vía p53/Bnip3 (56, 61).

Tabla 5. Proteínas y microRNAs de vesículas extracelulares con efecto biológico en IAM.

Componente	Blanco molecular	Efecto	Referencia
PDGF-D	PDGFR β	Induce angiogénesis y promueve migración endotelial	45, 56, 66
Papalisina-1	Factor de crecimiento similar a insulina 1	Induce angiogénesis, promueve proliferación celular y disminuye apoptosis	45, 81
CXCR4	PI3K/Akt	Induce angiogénesis, promueve proliferación y supervivencia celular y reduce el tamaño de la zona de infarto	56, 65
Jagged-1	Notch	Promueve proliferación de cardiomiocitos e induce angiogénesis	56, 67
Wnt4	Wnt4/ β -Catenina	Promueve proliferación y migración endotelial	56, 64
IL-4 e IL-10	Células Th-1	Deprimen actividad inflamatoria	56, 72
PD-1L	Células Th-1	Media inmunosupresión	56, 73
Cinasa ligada a integrina	NF-K β	Producción de citocinas proinflamatorias	45

miR-210	FLASH, Casp8ap2, EfnA-3	Reduce apoptosis, induce angiogénesis y reduce el tamaño de la zona de infarto	45, 47, 56-59, 90
miR-21	FLASH, Casp8ap2, PDCD4, FasL, PTEN y Peli1	Reduce apoptosis y promueve proliferación celular	45, 47, 49, 54, 91
miR-125b	p53/Bnip3, p53/BAK1, BAK1/TRAF6	Regulación de autofagia, promueve proliferación celular, reduce la apoptosis y es posible biomarcador	56, 60, 61, 69
miR-30 ^a	Beclina-1, ATG5	Regulación de autofagia	79
miR-30c y miR-30d	Picalm y Skil	Regulación negativa de apoptosis	56, 68, 69
miR-181b	Selectina-E, VCAM-1, ICAM-1, NF-κB	Regulación de inflamación cardiovascular y función endotelial	45, 51, 54
miR-126-3p	SPRED-1	Modulación de angiogénesis	53, 54
miR-93-5p	ATG7, TLR4	Reducción de autofagia y expresión de citocinas proinflamatorias	56, 63
miR-152-3p y let-7i-5p	ATG12 y FasL	Reducción de apoptosis de cardiomiocitos	56, 70
miR-999a-3p	GATA4	Mejora función eléctrica del atrio	45
miR-124	STAT3	Aumenta apoptosis	56, 71
miR-122	GATA4	Aumenta apoptosis	56

PDGF-D: factor de crecimiento D derivado de plaquetas; PDGFRβ: receptor β del factor de crecimiento derivado de plaquetas; PI3K: fosfoinositol 3-cinasa; Akt: proteína cinasa B; CXCR4: receptor 4 de quimiocinas C-X-C; Wnt4: proteína 4 Wingless e Int; IL-4,-10: interleucina 4, 10; Pd-1L: ligando 1 de muerte programada; NF-κB: factor nuclear κB; miR: microRNA; FLASH: proteína asociada a FLICE; Casp8ap2: proteína 2 asociada a la caspasa 8; PDCD4: proteína 4 de muerte celular programada; PTEN: fosfatidilinositol-3, 4, 5-trisfosfato 3-fosfato; Bnip3: proteína de interacción con Bcl2; BAK1: proteína 1 antagonista/asesina de Bcl2; TRAF6: factor 6 asociado al receptor del factor de necrosis tumoral alfa; ATG: proteína relacionada con la autofagia; VCAM-1: molécula de adhesión vascular 1; ICAM-1: molécula de adhesión intercelular 1; SPRED-1: proteína 1 que contiene el dominio EVH1 relacionada con Sprouty; FasL: ligando de Fas; TLR4: receptor 4 tipo Toll; STAT3: transductor de señal y activador de transcripción 3.

En otros estudios, se ha estudiado su capacidad cardioprotectora (56) gracias a que tiene como objetivo a p53 y BAK1 (receptor de cinasa 1 asociado al receptor 1 insensible a brasinoesteroides), lo que da como resultado efectos antiapoptóticos (56, 60) y su impacto en el reparo cardiaco a través de promover la supervivencia celular mediante la vía BAK1/TRAF6 (factor 6 asociado al receptor del factor de necrosis tumoral alfa) que desemboca en la proliferación celular de cardiomiocitos (56). Otro ejemplo importante es la familia de miR-30, específicamente miR-30a (79), miR-30c-5p (68) y miR-30d-5p (56, 69). miR-30a, se ha referido como un importante regulador de la autofagia por su papel como regulador negativo de Beclina-1 y de ATG5 (79) en modelos *in vitro*; miR-30c-5p y miR-30d-5p, por su parte, han sido citados como importantes reguladores negativos de la apoptosis de cardiomiocitos, al tener como objetivo a Picalm y Skil (56, 58, 69). miR-181b, también ha demostrado un rol potencial como cardioprotector al regular la inflamación cardiovascular y la función endotelial al reducir la transcripción de selectina-E, VCAM-1 e ICAM-1 y la atenuación de la vía NF- κ B en células endoteliales (45, 51, 54). Como modulador de angiogénesis ya sea de manera directa o indirecta, también contamos con miR-126-3p (53, 54), ya que posee la capacidad de modular distintos componentes angiogénicos tales como SPRED-1, un importante elemento en la vía de Ras/MAPK, que converge en la proliferación y diferenciación celular (53). Otros ejemplos de microRNAs implicados en la protección y reducción de la lesión miocárdica son: miR-93-5p, que se ha descrito en EVs derivados de tejido adiposo, cuenta con el atributo de reducir la autofagia inducida por hipoxia y la reducción en la expresión de citocinas proinflamatorias al tener como objetivo a ATG7 y TLR4 (56, 63), miR-152-3p que junto a let-7i-5p, se encuentran profundamente involucrados en la reducción de la muerte celular de cardiomiocitos inducida por hipoxia, al tener como objetivo a ATG12 y FasL (56, 70) y miR-999a-3p, que de acuerdo a algunos estudios, ha demostrado mejorar la función eléctrica del atrio al regular la acetilación de unión a GATA4 (45). Las EVs no solo cuentan con microRNAs con capacidades benéficas, como se mencionó al inicio del capítulo, también hay algunos microRNAs que participan en el agravamiento de la enfermedad tales como miR-124 y miR-122, que son

considerados como agentes pro-apoptóticos al activar la vía de STAT3 y al inhibir a *GATA4*, de manera respectiva (56, 71).

Ahora bien, de manera más específica, el rol cardioprotector de los exosomas, según distintas investigaciones, es debido a su carga proteica y de microRNAs (45, 75, 76, 81). De manera general, a estas estructuras se les atribuyen efectos positivos en la proliferación celular, la reducción de la fibrosis cardiaca y la supresión de la apoptosis (74, 77, 78, 80, 81) (Ver **Tabla 6**). Según la información disponible, se observó que los exosomas conferían cardioprotección mediante efectos pro-supervivencia celular de cardiomiocitos, a través de la proteína HSP70, al tener interacción con TLR4, que a su vez lideraba la activación de la vía de ERK1/2 y p38MAPK (77, 80, 81). Otros estudios realizados de igual manera en modelos *in vitro* con células animales (miocitos ventriculares de rata neonatal), con el uso de exosomas derivados de células A1 procedentes de un miembro posterior de tritón del este americano (*Notophthalmus viridescens*), concluyeron que conferían protección contra la apoptosis celular mediante la activación de Akt (78). Asimismo, el cargamento de microRNAs que presentan los exosomas, es importante ya que los datos sugieren un relevante papel de estos microRNAs en la interrupción de vías pro-inflamatorias y pro-fibróticas (75, 76). Entre los miRNAs más destacados encontramos a miR-19a-3p, que regula de manera negativa a TSP-1 (trombospodina 1), que es un importante inhibidor de angiogénesis; regula de manera positiva a VEGFR2 y la vía PIKE/Akt para promover la proliferación celular (45, 46); otro ejemplo es miR-24, que disminuye los niveles de caspasa 3 al regular a la baja la proteína Bim, lo que se traduce en una reducción en la apoptosis (45, 48, 81). miR-294, actúa mediante la vía de Akt y juega un papel importante en la modulación de la reprogramación, proliferación y supervivencia celular, algunos autores refieren que supone una gran aportación en la reparación post-IAM (45, 52); miR-29, el cual regula negativamente la fibrosis, es decir, regula a la baja al factor transformante de crecimiento β (TGF- β), colágena tipo I (COL1A) y colágena tipo III (COL3A) (45, 75); miR-25-3p, del que se han descrito tres mecanismos, el primero involucra la regulación positiva de PTEN para inducir la proliferación celular, el segundo es la regulación a la baja de FasL, lo que inhibe

la apoptosis, y el último donde se regula a EZH2 (potenciador de la subunidad del complejo represivo 2 Polycomb Zeste 2) para inhibir el proceso inflamatorio dependiente de eNOS y SOCS3 (55). Otro microRNA con potencial proangiogénico es miR-125a, al tener como objetivo a DLL4, que es el ligando de Notch (62). Otros microRNAs de exosomas a los que se les atribuye un rol cardioprotector son miR-146, miR-143 y miR-122, de los cuales estos dos últimos, se ha descrito que incrementan la proliferación, migración celular y promueven la angiogénesis (45, 50).

Tabla 6. Proteínas y microRNAs de exosomas con efecto biológico en IAM.

Componente	Blanco molecular	Efecto	Referencia
HSP70	TLR4	Promueve supervivencia de cardiomiocitos	77, 80, 81
miR-19a-3p	TSP-1, VEGFR2, PIKE/Akt	Induce angiogénesis, promueve proliferación celular	45, 46
miR-24	Bim	Reduce apoptosis	45, 48, 81
miR-294	Akt	Modulación de reprogramación, proliferación y supervivencia celular	45, 52
miR-29	TGF- β , COL1A, COL3A	Regula negativamente la fibrosis	45, 75
miR-25-3p	PTEN, FasL, EZH2	Promueve proliferación celular, reduce apoptosis y reduce el proceso inflamatorio	55
miR-125a	DLL4	Induce angiogénesis	62

HSP70: proteína de choque térmico 70; TLR4: receptor 4 tipo Toll; miR: microRNA; TSP-1: trombospodina 1; VEGFR2: receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular; PIKE: potenciador de fosfoinositol 3-cinasa; Akt: proteína cinasa B; Bim: proteína 11 similar a Bcl2; TGF- β : factor transformante de crecimiento beta; COL1A: colágena tipo I; COL3A: colágena tipo III; PTEN: fosfatidilinositol-3, 4, 5-trisfosfato 3-fosfato; FasL: ligando de Fas; EZH2: potenciador de la subunidad del complejo represivo 2 Polycomb Zeste 2; DLL4: ligando canónico 4 de Notch similar a Delta.

En el caso particular de las microvesículas, la información disponible indica que estas estructuras cuentan con peculiaridades, ya que su función biológica depende de qué tipo celular provengan (54) (Ver **Figura 10**), pero en general son consideradas como partícipes clave en los procesos de inflamación, formación de la placa aterosclerótica y su subsecuente ruptura (54, 81-86) (Ver **Tabla 7**).

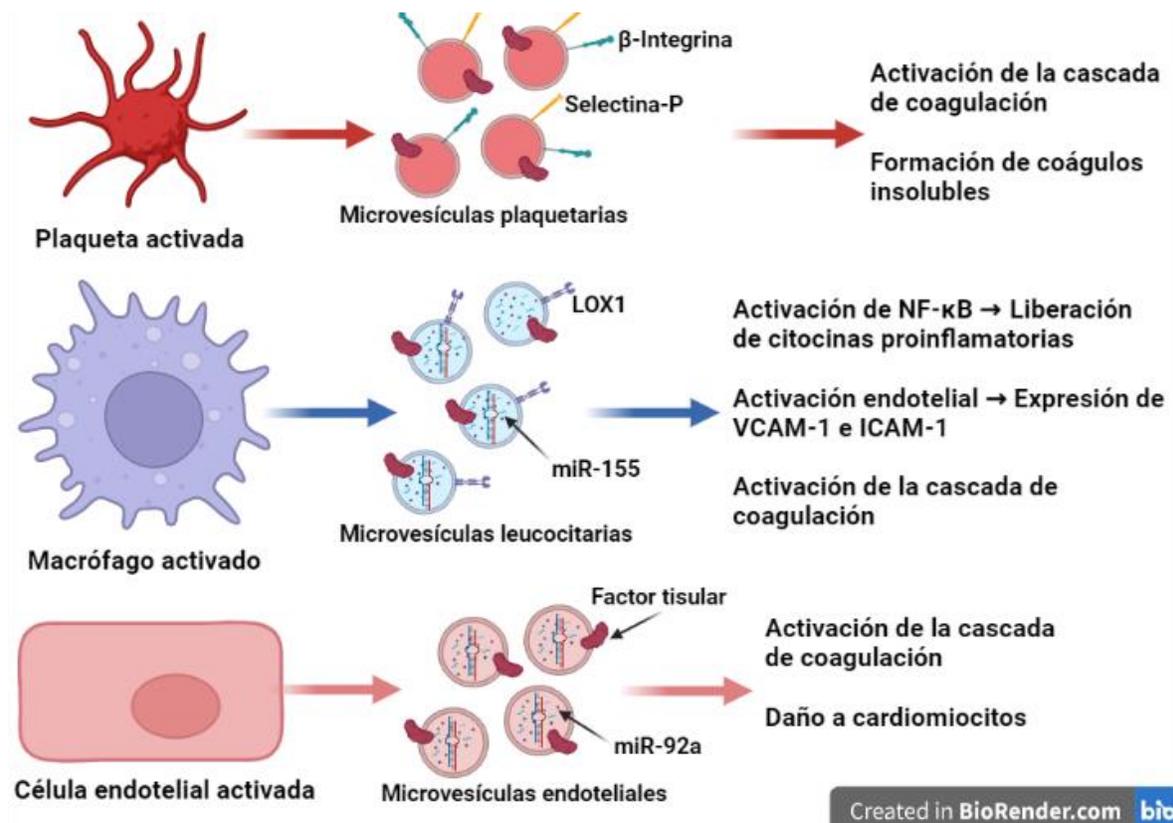


Figura 10. Potencial pro-coagulante y proinflamatorio de las microvesículas. Esquema representativo del mecanismo pro-coagulante y proinflamatorio que desencadenan las microvesículas liberadas por células activadas (plaquetas, macrófagos y células endoteliales) al interactuar con sus blancos celulares y moleculares. Se esquematiza de igual manera algunas proteínas y microRNAs más importantes que componen a las microvesículas de cada tipo celular mencionado. Imagen creada a partir de las referencias: 31, 36, 54, 82, 85, 86. Imagen creada en <https://biorender.com/>.

Tabla 7. Proteínas y microRNAs de microvesículas con efecto biológico en IAM.

Componente	Blanco molecular	Efecto	Referencia
TF	Cascada de coagulación	Promueve la formación de un coágulo.	31, 36, 54, 82, 85, 86
LOX1	NF-κB	Liberación de citocinas proinflamatorias	54
miR-155	VCAM-1, ICAM-1	Activación endotelial	54, 85
miR-221	GATA4	Inducción de angiogénesis	81
miR-92a	Aún no descrito	Posible biomarcador	84

TF: factor tisular; LOX1: receptor 1 de lipoproteínas de baja densidad oxidadas similares a lectinas; NF-κB: factor nuclear κB; miR: microRNA; VCAM-1: molécula de adhesión vascular 1; ICAM-1: molécula de adhesión intercelular 1.

Las microvesículas derivadas de plaquetas, corresponden aproximadamente de 70 a 90% de todas las microvesículas en circulación (54). Su liberación es inducida por la coagulación, la agregación plaquetaria, por mediadores proinflamatorios (tales como complemento, ligando soluble de CD40, lipopolisacárido y citocinas), las fuerzas de rozamiento y la hipoxia (54). Se ha observado que las microvesículas provenientes de plaquetas cuentan con una capacidad pro-coagulante mayor que las plaquetas activadas (54, 82, 85), esta capacidad es debida a la presencia de una mayor densidad superficial de β-integrinas y selectina-P, así como la presencia de fosfolípidos aniónicos y una expresión importante de TF (54, 82, 85, 86). Se ha reportado que el número de microvesículas de plaquetas está relacionado con el tamaño del daño en IAM (83), por lo que muchos autores sugieren que tienen un potencial muy alto como biomarcadores de esta enfermedad. Ahora bien, las microvesículas leucocitarias, son el segundo subconjunto más trombogénico después de las microvesículas plaquetarias (54). La liberación de las microvesículas derivadas de leucocitos es inducida por hipoxia, estados pro-inflamatorios y respuestas inmunes (54). Estas microvesículas participan en la amplificación de la respuesta inflamatoria mediante la transferencia de patrones moleculares asociados a daño tales como LOX1 (receptor 1 de lipoproteínas de baja densidad oxidadas similares a lectinas), que

genera la activación del complejo NF- κ B, para la liberación de citocinas proinflamatorias: IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α . Las MVs leucocitarias también son capaces de inducir la activación de vías clásicas del complemento y pueden activar células endoteliales mediante la transferencia de miR-155 a dichas células, lo que deriva en la expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales, así como VCAM-1 e ICAM-1 (54, 85). Por otra parte, tenemos a las microvesículas endoteliales, que al igual que las anteriores, son partícipes en la actividad proinflamatoria y trombótica, y también juegan un rol importante en la regulación vascular (54, 82, 85), y su posible rol como biomarcador también ha sido descrito (84). La regulación vascular es mediada por su carga de microRNAs, contando con moduladores de la senescencia celular (miR-217), reguladores de la inflamación y la función endotelial (miR-146a) (54), y mediadores de la angiogénesis (miR-221) con un mecanismo dependiente de *GATA4* (81). Su actividad pro-inflamatoria se debe a la expresión de TF (54, 85) y a microRNAs, especialmente la expresión de miR-92a, que según los resultados de una investigación reciente podría estar relacionado con el daño a cardiomiocitos y es considerado un posible biomarcador (84). Para el estudio de las funciones que cumplen las microvesículas derivadas de plaquetas, monocitos, leucocitos y células endoteliales, se han diseñado experimentos donde se toman muestras sanguíneas de pacientes que han presentado un episodio cardiovascular o que cuentan con distintos factores de riesgo asociados a IAM, de las cuales se aíslan microvesículas-TF positivas o microvesículas-CD dependientes del tipo celular que es requerido, las cuales se caracterizan mediante citometría de flujo utilizando un marcaje con anticuerpos anti-anexina V y anti CD, conjugados con isotiocianato de fluoresceína y ficoeritrina (82, 85).

X. Discusión

Después de años de investigación, se ha observado que el IAM es una enfermedad de índole multifactorial que se ve influenciada por distintos tipos celulares, entre los que se incluyen células del sistema inmune, plaquetas, fibroblastos, células del músculo liso, células endoteliales y los cardiomiocitos (91), pero hasta hace unos años que fueron descritas las vesículas extracelulares se pudo dilucidar que dichas estructuras son agentes etiológicos importantes en el desarrollo de IAM tanto por su contenido lipídico y proteico como de ácidos nucleicos, los cuales, mediante distintas aportaciones por diversos investigadores, se ha descrito que de alguna manera participan en el desarrollo de un infarto y la placa aterosclerótica (28-31, 91).

Debido a que las vesículas extracelulares y los microRNAs se encuentran en diversos fluidos del cuerpo, se ha propuesto su uso como biomarcadores de diagnóstico temprano (108), ya que muchos de los biomarcadores cardiacos con los que se cuenta actualmente en la práctica clínica no son específicos del IAM y su presencia se ve reflejada horas después de que ocurrió el evento cardiaco; ejemplo de esto son dos de los biomarcadores usados con mayor frecuencia para diagnosticar daños al miocardio: la Troponina I y T, donde su liberación ocurre en un intervalo de 6 a 12 h posterior al infarto (105). Además, la Troponina I no es específica para el daño cardiaco, ya que se ha observado que los niveles de dicha subunidad se elevan también por la cardiotoxicidad debida a quimioterapias, falla renal crónica, embolias pulmonares y operaciones no necesariamente de miocardio (93). Otro ejemplo es la creatinin cinasa (CK), una enzima dimérica que consiste en dos subunidades, M y B, y que cuenta con 3 isoenzimas, siendo CK-MB la más importante, ya que esta, al ser la única isoenzima que se encuentra en gran cantidad en el tejido cardiaco, es la que brinda información del daño al miocardio, aunque eso no significa que no se encuentre en otros tejidos, ya que también se puede encontrar en músculo esquelético, intestino, lengua y la próstata (107). A pesar de su importancia, se ha observado que su especificidad se ve comprometida por la interferencia catalítica por macrocinasas o cinasas inespecíficas, que pueden provocar un falso aumento en su actividad catalítica y

derivar en valores compatibles con un daño al miocardio (110). Aunado a lo anterior, aun cuando la CK tiene un incremento en su concentración de 4 a 9 h después de un IAM, se ha observado que existen otras condiciones que también desembocan en un aumento en la concentración de esta enzima, como la embolia pulmonar, fármacos como la aspirina, hipotiroidismo, falla renal crónica, trauma muscular, síndrome de Reye, alcoholismo, convulsiones, inyecciones intramusculares, ejercicio físico extremo, miopatías genéticas o secundarias, etc. lo que causa en algunas ocasiones que de igual manera se den falsos positivos en cuanto a un diagnóstico de daño cardíaco (107, 110).

Existen estudios que han reportado que algunos microRNAs como miR-1, 133a/b, 208a y 499, los cuales participan en la regulación de la función y el desarrollo de los cardiomiocitos, presentan niveles incrementados dentro de un intervalo de 1 a 24 h después de un infarto, con un pico máximo de 3 a 6 h posteriores a este evento (93, 106). También se ha observado que, de manera específica, miR-208a es indetectable en pacientes saludables, mientras que en pacientes que presentaron un infarto, se detectó 4 h después del dolor de pecho (95). Por otra parte, se tienen datos sobre 3 microRNAs (miR- 192, -194 y -34a), provenientes de exosomas aislados a partir del suero, que se encontraban sobreexpresados en pacientes que sufrieron IAM, y que en una ventana de 12 meses comenzaron a experimentar síntomas de insuficiencia cardíaca (95).

Por otra parte, no solo los microRNAs podrían fungir como biomarcadores, sino de igual forma se podría hacer uso del cargamento proteico y lipídico con el que cuentan las vesículas extracelulares, por ejemplo, en el caso de la enfermedad arterial coronaria (la antesala a un infarto), se han identificado altos títulos de microvesículas y posiblemente apoptosomas que expresan anexina V y fosfatidilserina (29-31), lo que se ha identificado como un posible predictor de riesgo para padecer un evento cardíaco fatal (93). Cabe recalcar que una de las características más importantes del IAM es la fase de la ruptura de la placa y el proceso de trombogénesis en donde las microvesículas liberadas por las plaquetas activadas juegan un papel muy importante, siendo estas las que provocan mayoritariamente la formación del trombo por la expresión de TF en su

estructura superficial y esto ha sido objeto de estudio, dando como resultado, en principio que la cantidad de microvesículas derivadas de plaquetas está relacionado con el tamaño del daño en IAM (83), lo que da fuerza a lo anteriormente descrito acerca del posible uso de las vesículas extracelulares como biomarcadores.

Aún se necesita trabajar en mejorar los límites de detección, para poder asegurar la prognosis de un evento cardiaco; de igual forma se debe trabajar en normalizar la manera en la que se aíslan las vesículas extracelulares y los microRNAs, teniendo que definir cuál o cuáles son las técnicas de elección para su detección y aislamiento. En la actualidad contamos con métodos que facilitan la caracterización y aislamiento de EVs, lo que ha brindado información acerca de su tamaño, concentración, marcadores proteicos, concentración de proteínas y otros componentes (96) (Ver **Tabla 8**).

De igual manera, para la detección de los microRNAs se cuenta con técnicas como la PCR de punto final, como parte de la secuenciación Sanger para conocer la secuencia y la qRT-PCR para cuantificar los ácidos nucleicos presentes en las vesículas extracelulares (90, 94, 109), y técnicas de detección de proteínas como el Western blot.

Tabla 8. Métodos de aislamiento y caracterización de microvesículas.

Método	Descripción
Aislamiento basado en la ultra centrifugación	Se usan ciclos de 120, 000 g a 4° C, con los cuales se separan los componentes por su volumen y sus propiedades físicas (gradiente de densidad, coeficiente de sedimentación), obteniendo buenos concentrados de EVs.
Aislamiento basado en el tamaño	Se hace uso de dos técnicas, la primera es la técnica de ultrafiltración, mediante membranas con diámetros de poro de 0.1 a 0.45 µm y la segunda mediante cromatografía por exclusión de tamaño, obteniéndose preparaciones de alta pureza.

Aislamiento mediante precipitación	Se tiene como objetivo formar agregados mediante el uso de polímeros o lectinas, los cuales son sometidos posteriormente a un ciclo de centrifugación con baja velocidad.
Aislamiento basado en la captura por inmunoespecificidad	Hace uso de perlas magnéticas recubiertas por anticuerpos de tamaño submicrónico, específicos para marcadores de membrana de las vesículas extracelulares.
Análisis de seguimiento de nanopartículas	Hace uso de microscopía de dispersión con luz láser y una cámara, lo que permite la visualización y registro de parámetros como concentración y tamaño de las vesículas extracelulares.
Microscopía de transmisión electrónica (TEM)	Brinda información acerca de las proteínas superficiales con las que cuentan las vesículas extracelulares, haciendo uso de un marcaje con inmuno-oro.
Espectroscopia de Raman	Hace uso de una fuente de luz de alta intensidad que es dispersada por las moléculas de las vesículas extracelulares, lo que provoca una frecuencia y una intensidad distinta en la muestra, revelando la cantidad de EVs y las proteínas de su estructura.

Se presentan las técnicas de aislamiento y caracterización de vesículas extracelulares más usadas a nivel de investigación y una descripción de manera general sobre el principio de estas; su contenido está basado en la referencia 96.

A comparación de las demás técnicas descritas en la Tabla 8, el aislamiento mediante precipitación podría ser una técnica para diagnóstico de daño cardíaco, por su fácil uso, sus pocos requerimientos en cuanto a equipo especial, su capacidad de brindar preparaciones de alta pureza y su posible escalamiento a procesos industriales para purificación de vesículas extracelulares para la creación de terapias (96, 98). Lo anterior no solo tiene justificación en cuanto a la parte técnica sino también económica, puesto que su bajo costo lo hace más atractivo en comparación a kits comerciales o aquellas metodologías que conllevan el uso

de equipo especial, que representa un costo extra, el cual, al menos en muchos países que no cuentan con una buena economía, sería imposible solventar.

Otro de los puntos importantes por los cuales las vesículas extracelulares y los microRNAs han despertado interés en algunos investigadores, es por la posibilidad de usar dichas estructuras como parte de una terapia para contrarrestar los efectos causados por el IAM (45, 54, 56). De manera más específica, el interés recae en su capacidad para transferir información hacia otras células influyendo así en su función (29-31); entre dicha información o material de interés con posibles usos terapéuticos encontramos la carga citosólica de las EVs, como su contenido proteico y de ácidos nucleicos, los cuales gracias a la membrana de bicapa lipídica, se encuentran protegidos de la degradación por enzimas en los biofluidos (98). Entre las propiedades más importantes o cruciales que se han sugerido en la terapia regenerativa, las cuales fueron mencionadas en el Capítulo IV, se encuentra la capacidad antiinflamatoria, la angiogénesis, la proliferación celular, la reducción de la zona de infarto, la migración endotelial, etc.

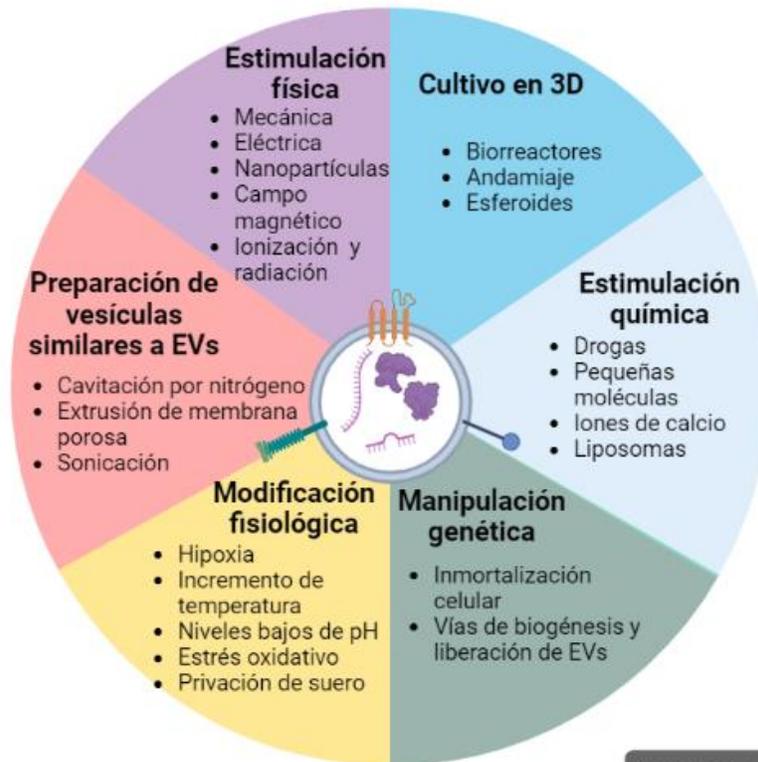
Una de las tantas evidencias con las que se cuenta para abordar la sugerencia de usar a los microRNAs y a las vesículas extracelulares como parte de una terapia, es la existencia de una lesión, conocida como lesión letal por reperfusión (103), que se caracteriza por una acumulación de calcio intracelular, liberación de especies reactivas de oxígeno, y alteración en el metabolismo celular debido a una disminución en el pH en la zona de isquemia (104), la cual aparece después de una intervención quirúrgica que tiene como objetivo tratar el miocardio tras un infarto para evitar daños al mismo. Aunque se ha descrito que dicha lesión no ocurre con frecuencia, su aparición si es probable, por lo que se necesitan terapias alternativas que sean menos invasivas y más seguras; es aquí donde podrían tener un papel importante las vesículas extracelulares y los microRNAs, los cuales, gracias a diversos experimentos han demostrado ser una posible opción como terapia, ya sea de manera individual como de manera conjunta. En el año 2023, Shao y colaboradores (94) reportaron que mediante un mecanismo de hipoxia inducida a un cultivo de huMSC, lograron obtener vesículas extracelulares que contaban con miR-214, el cual a pesar de no presentar una gran expresión

dentro de dichas estructuras, logró tener un papel relevante en el incremento de la angiogénesis y la disminución de la remodelación ventricular, teniendo como blanco molecular a SUFU (supresor de homólogo fusionado), el cual es un importante regulador negativo de la vía de señalización Sonic Hedgehog (SHH), donde este al ser regulado negativamente por miR-124, provocaba la activación de SHH, desencadenando la activación de VEGF.

Por otra parte, también hay estudios donde no solo se recurre a modelos de hipoxia, sino que se usan modelos de pretratamiento con alguna molécula bioactiva, fármacos o drogas; en el año 2023, Pu y colaboradores (90), realizaron un pretratamiento de células madre mesenquimales de cordón umbilical (huMSC) con nicotinamida mononucleótido (NMN), ya que existen estudios que sugieren que la NMN podría proteger al miocardio del envejecimiento inducido, el daño post-isquemia y el tratamiento con doxorubicina. El experimento fue realizado en dos modelos diferentes, el primero, con células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVEC), donde los resultados sugieren que las EVs resultantes del pretratamiento contribuyeron a la proliferación, migración y angiogénesis en dichas células, y el segundo mediante un modelo animal de infarto, donde se inyectaron las microvesículas derivadas de las NMN- huMSC, en la periferia del área de infarto, demostrando que el área de fibrosis se vio reducida así como la apoptosis celular, gracias a un mecanismo de angiogénesis. También es importante mencionar que las EVs derivadas de las NMN- huMSC, contaban con miR-210, un microRNA de gran interés, ya que se ha propuesto que cuenta con mecanismos de cardioprotección y de regeneración (45, 47, 56-59, 90). Otro ejemplo que sugiere que las vesículas extracelulares pueden ser usadas como terapia regenerativa fue dilucidado por Zhu y colaboradores en 2021 (109), cuando obtuvieron exosomas a partir de huMSC, que expresaban factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF), mostrando así la capacidad de reducir el área de fibrosis, promover la formación de capilares e inhibir la apoptosis; al igual que en el caso anterior, estos exosomas contaban con la presencia de un microRNA con potencial cardioprotector y regenerativo, de manera específica, miR-133a-3p.

Para robustecer las premisas anteriores de que las EVs y los microRNAs pueden ser usados para la creación de terapias para tratar los síntomas post IAM, en la actualidad existen muchas técnicas que son usadas con el objetivo de producir a gran escala vesículas extracelulares, ya que este proceso también es una parte importante para la implementación de estas estructuras biológicas como terapia (98). Algunas de las técnicas que han sido investigadas son el cultivo celular tridimensional, estimulación química, estimulación física, manipulación genética y la modificación fisiológica, aunque algunos estudios sugieren que se pueden explorar otras técnicas de tipo estimulación física como la sonicación, la cavitación por nitrógeno y la extrusión de membrana porosa para producir vesículas similares a las EVs conocidas como nanovesículas miméticas de EVs, las cuales cuentan con funciones y características similares a las EVs naturales (98) (Ver **Figura 11**).

En el rubro de la manipulación genética, existe la posibilidad de cambiar el contenido de las vesículas extracelulares mediante la ingeniería genética, para hacer uso de agentes terapéuticos específicos como proteínas, lípidos o los microRNAs (98, 108), y realizar combinaciones de técnicas para poder producir a una escala mayor la cantidad de vesículas extracelulares que se desee.



Created in BioRender.com

Figura 11. Producción escalable de vesículas extracelulares. Esquema completo de las estrategias de producción a gran escala de vesículas extracelulares descritas hasta el momento. Modificación y traducción de Scalable Production of Extracellular Vesicles and Its Therapeutic Values: A Review. (98) [Imagen]. Imagen creada en <https://biorender.com/>.

Otra característica positiva que se puede encontrar en la literatura es la sugerencia de que la terapia basada en EVs y microRNAs ha mitigado algunas de las preocupaciones relacionadas con las terapias basadas en células, entre las cuales se encuentra un bajo riesgo de malignidad, la capacidad de cruzar barreras biológicas y un bajo perfil inmunogénico (98, 108, 109), lo que brinda una idea de cuan amplio es el panorama de estudio de las EVs y los microRNAs en el infarto agudo de miocardio.

Existen también limitaciones importantes en esta área, ya que los experimentos siguen formando parte de la fase preanalítica, al menos en cuanto al IAM; en el caso de enfermedades como el cáncer, se tiene contemplada la realización de pruebas clínicas con vacunas basadas en la producción de EVs derivadas de células dendríticas y melanoma que expresan ovoalbúmina (100, 101, 108).

Otra de las limitaciones con las que cuentan los estudios es que el contenido y la función de las EVs va a depender de las propiedades metabólicas de los donadores, o las condiciones del medio, las cuales dificultarían el proceso de manufactura (108).

Cabe aclarar que aún se necesitan más estudios, esto debido a que los microRNAs no cuentan con solo un blanco molecular, lo que complica el establecimiento de una terapia con uno o varios microRNAs, ya que se podrían tener efectos secundarios.

XI. Conclusiones

- La literatura consultada sugiere una posible aplicación terapéutica de las EVs y algunos microRNAs para tratar la lesión provocada por IAM, así como su uso como biomarcadores para el diagnóstico temprano y de evidencia del grado de daño por IAM.
- En el presente trabajo se describieron algunos de los mecanismos por los cuales las EVs y los microRNAs participan en el desarrollo de un infarto agudo de miocardio, siendo estos: el potencial pro-coagulante y proinflamatorio que puede comprometer aún más el sitio de infarto y poner en riesgo de muerte a un paciente, hasta la cardioprotección mediante la angiogénesis, el potencial regenerativo post-isquemia, la reducción de la inflamación, envejecimiento y muerte celular, convirtiéndolos en posibles agentes terapéuticos teniendo iguales o mejores resultados que los trasplantes celulares.
- Con base en la información actual sobre biomarcadores también se reportó, el posible uso de las EVs y ciertos microRNAs como biomarcadores pronósticos por su sobreexpresión cuando existe un daño al miocardio; aunado a esto, la falta de biomarcadores más específicos para demostrar un daño al miocardio crea la necesidad de buscar biomarcadores adicionales.
- Aunque aún queda mucho por delante en este camino hacia la implementación de las EVs y los microRNAs como agentes terapéuticos o biomarcadores, se debe tener en cuenta que son herramientas que necesitan mejorar en cuanto a su efectividad y su tipo de producción y que también deben ser considerados otros factores como la edad, el género, el tipo de población, los antecedentes genéticos, y los co-tratamientos, para que en futuros experimentos, puedan ser aplicados con tasas altas de éxito a pacientes propensos o que sufrieron un IAM.

XII. Referencias

1. Cassiani M., Carlos A., Cabrera G., Armando Síndromes coronarios agudos: epidemiología y diagnóstico. Salud Uninorte [en línea]. 2009, 25(1), 118-134[fecha de Consulta 9 de Septiembre de 2021]. ISSN: 0120-5552. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81711840011>
2. Fuster V, Steele PM, Chesebro JH. Role of platelets and thrombosis in coronary atherosclerotic disease and sudden death. J Am Coll Cardiol. 1985 Jun;5(6 Suppl):175B-184B. doi: 10.1016/s0735-1097(85)80552-0. PMID: 3889109.
3. Singh A, Museedi AS, Grossman SA. Acute Coronary Syndrome. [Updated 2021 Jul 19]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459157/>
4. Organización Mundial de la Salud. (2020). La OMS revela las principales causas de muerte y discapacidad en el mundo: 2000-2019. <https://www.who.int/es/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019>
5. World Health Organization (2021). Cardiovascular diseases (CVDs). https://www.who.int/es/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab_1
6. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2021, 29 de julio). Características de las defunciones registradas en México durante 2020, preliminar [Comunicado de prensa]. https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2021/EstSocio demo/DefuncionesRegistradas2020_Pre_07.pdf
7. Allen P. Burke, Renu Virmani. (2007). Pathophysiology of Acute Myocardial Infarction, Medical Clinics of North America, Volume 91, Issue 4, Pages 553-572, ISSN 0025-7125, <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2007.03.005>.
8. Reed, G. W., Rossi, J. E., & Cannon, C. P. (2017). Acute myocardial infarction. The Lancet, 389 (10065), 197-210. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673616306778>

9. Necochea Alva, J. C. (1999). Factores trombogénicos. *Revista Mexicana de Cardiología*. 10 (2), 70-84. Recuperado en 13 de septiembre de 2021 de <https://www.medigraphic.com/pdfs/cardio/h-1999/h992c.pdf>
10. Coll Muñoz, Yanier, Valladares Carvajal, Francisco, & González Rodríguez, Claudio. (2016). Acute Myocardial Infarction. An Update of the Clinical Practice Guideline. *Revista Finlay*, 6(2), 170-190. Recuperado en 06 de septiembre de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24342016000200010&lng=es&tlng=en.
11. Cisneros Sánchez, Liliam Gretel, & Carrazana Garcés, Edunys. (2013). Factores de riesgo de la cardiopatía isquémica. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 29(4), 369-378. Recuperado en 14 de septiembre de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252013000400010&lng=es&tlng=es.
12. Rathore, V., Singh, N., Mahat, R. K., Kocak, M. Z., Fidan, K., Ayazoglu, T. A. & Yolcu, A. (2018). Risk factors for acute myocardial infarction: A review. *EJMI*, 2(1), 1-7. <https://www.ejmi.org/pdf/Risk%20Factors%20for%20Acute%20Myocardial%20Infarction%20A%20Review-76486.pdf>
13. Rosano, G. M. C., Spoletini, I., & Vitale, C. (2017). Cardiovascular disease in women, is it different to men? The role of sex hormones. *Climacteric*, 20(2), 125-128. <https://doi.org/10.1080/13697137.2017.1291780>
14. Gene. (12 de septiembre de 2021). AGT angiotensinogen [Homo sapiens (human)]. Recuperado el 18 de septiembre de 2021 de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/183#bibliography>
15. Vargas-Alarcon, G., Perez-Mendez, O., Ramirez-Bello, J., Posadas-Sanchez, R., Gonzalez-Pacheco, H., Escobedo, G., Nieto-Lima, B., Carreon-Torres, E., & Fragoso, J. M. (2020). The c.*52 A/G and c.*773 A/G Genetic Variants in the UTR'3 of the LDLR Gene Are Associated with the Risk of Acute Coronary Syndrome and Lower Plasma HDL-

- Cholesterol Concentration. *Biomolecules*, 10(10), 1381.
<https://doi.org/10.3390/biom10101381>
16. Palmer, B. R., Paterson, M. A., Frampton, C. M., Pilbrow, A. P., Skelton, L., Pemberton, C. J., Doughty, R. N., Ellis, C. J., Troughton, R. W., Richards, A. M., & Cameron, V. A. (2021). Vascular endothelial growth factor-A promoter polymorphisms, circulating VEGF-A and survival in acute coronary syndromes. *PLoS ONE*, 16(7), 1–15.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254206>
17. National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Compound Summary for CID 89594, Nicotine. Retrieved September 20, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nicotine>.
18. Kadhum, M., Sweidan, A., Jaffery, A. E., Al-Saadi, A., & Madden, B. (2015). A review of the health effects of smoking shisha. *Clinical medicine (London, England)*, 15(3), 263–266. <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.15-3-263>
19. Wang, Z. V., & Scherer, P. E. (2016). Adiponectin, the past two decades. *Journal of molecular cell biology*, 8(2), 93–100.
<https://doi.org/10.1093/jmcb/mjw011>
20. Bascones, A., & González Moles, M.A.. (2003). Mecanismos inmunológicos de las enfermedades periodontales y periimplantarias. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*, 15(3), 121-138. Recuperado en 21 de septiembre de 2021, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852003000300003&lng=es&tlng=es.
21. Linton MRF, Yancey PG, Davies SS, et al. The Role of Lipids and Lipoproteins in Atherosclerosis. [Updated 2019 Jan 3]. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDTText.com, Inc.; 2000-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK343489/>
22. Kenichi Sakakura, Masataka Nakano, Fumiyuki Otsuka, Elena Ladich, Frank D. Kolodgie, Renu Virmani, *Pathophysiology of Atherosclerosis Plaque Progression*, Heart, Lung and Circulation, Volume 22, Issue 6, 2013,

23. Ahotupa M. (2017). Oxidized lipoprotein lipids and atherosclerosis. *Free radical research*, 51(4), 439–447.
<https://doi.org/10.1080/10715762.2017.1319944>
24. Guerrero, Belsy, & López, Mercedes. (2015). Generalidades del sistema de la coagulación y pruebas para su estudio. *Investigación Clínica*, 56(4), 432-454. Recuperado en 24 de septiembre de 2021, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332015000400010&lng=es&tlng=es.
25. Han, X., Liu, L., Niu, J., Yang, J., Zhang, Z., & Zhang, Z. (2015). Association between VEGF polymorphisms (936c/t, -460t/c and -634g/c) with haplotypes and coronary heart disease susceptibility. *International journal of clinical and experimental pathology*, 8(1), 922–927.
26. Chen, J. (1), Wang, S. (1), Pang, S. (2,6), Yan, B. (2,4,6), Cui, Y. (3), & Hawley, R. G. (5,7). (n.d.). Functional genetic variants of the GATA4 gene promoter in acute myocardial infarction. *Molecular Medicine Reports*, 19(4), 2861–2868. <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.9914>
27. Zhang, Y., He, X., Li, J., Yang, W., Cui, Y., Pang, S., Wang, H., & Yan, B. (2020). Functional Genetic Variant in ATG5 Gene Promoter in Acute Myocardial Infarction. *Cardiology Research & Practice*, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2020/9898301>
28. Doyle, L. M., & Wang, M. Z. (2019). Overview of Extracellular Vesicles, Their Origin, Composition, Purpose, and Methods for Exosome Isolation and Analysis. *Cells*, 8(7), 727. <https://doi.org/10.3390/cells8070727>
29. van Niel, G., D'Angelo, G. & Raposo, G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol* 19, 213–228 (2018). <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.125>
30. Graça Raposo, Willem Stoorvogel; Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol* 18 February 2013; 200 (4): 373–383. doi: <https://doi.org/10.1083/jcb.201211138>

31. Yáñez-Mó, M., Siljander, P. R., Andreu, Z., Zavec, A. B., Borràs, F. E., Buzas, E. I., Buzas, K., Casal, E., Cappello, F., Carvalho, J., Colás, E., Cordeiro-da Silva, A., Fais, S., Falcon-Perez, J. M., Ghobrial, I. M., Giebel, B., Gimona, M., Graner, M., Gursel, I., Gursel, M., De Wever, O. (2015). Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *Journal of extracellular vesicles*, 4, 27066. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.27066>
32. Akers, J. C., Gonda, D., Kim, R., Carter, B. S., & Chen, C. C. (2013). Biogenesis of extracellular vesicles (EV): exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies. *Journal of neuro-oncology*, 113(1), 1–11. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5533094/>
33. Battistelli, M., & Falcieri, E. (2020). Apoptotic bodies: particular extracellular vesicles involved in intercellular communication. *Biology*, 9(1), 21. <https://www.mdpi.com/2079-7737/9/1/21/htm>
34. Alexandru, N., Costa, A., Constantin, A., Cochior, D., & Georgescu, A. (2017). Microparticles: From Biogenesis to Biomarkers and Diagnostic Tools in Cardiovascular Disease. *Current stem cell research & therapy*, 12(2), 89–102. <https://doi.org/10.2174/1574888X11666151203224058>
35. Record, M., Silvente-Poirot, S., Poirot, M., & Wakelam, M. (2018). Extracellular vesicles: lipids as key components of their biogenesis and functions. *Journal of lipid research*, 59(8), 1316–1324. <https://doi.org/10.1194/jlr.E086173>
36. Tricarico, C., Clancy, J., & D'Souza-Schorey, C. (2017). Biology and biogenesis of shed microvesicles. *Small GTPases*, 8(4), 220-232. <https://doi.org/10.1080/21541248.2016.1215283>
37. Ambros, V. The functions of animal microRNAs. *Nature* 431, 350–355 (2004). <https://doi.org/10.1038/nature02871>
38. Yong Zhao, Deepak Srivastava, A developmental view of microRNA function, *Trends in Biochemical Sciences*, Volume 32, Issue 4, 2007, Pages 189-197, ISSN 0968-0004, <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2007.02.006>.

39. Ha, M., Kim, V. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15, 509–524 (2014). <https://doi.org/10.1038/nrm3838>
40. O'Brien Jacob, Hayder Heyam, Zayed Yara, Peng Chun. (2018). Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 402. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2018.00402>.
41. García-López, J., Brieño-Enríquez, M. & del Mazo, J. (2013). MicroRNA biogenesis and variability. *BioMolecular Concepts*, 4(4), 367-380. <https://doi.org/10.1515/bmc-2013-0015>
42. Lin, S., Gregory, R. MicroRNA biogenesis pathways in cancer. *Nat Rev Cancer* 15, 321–333 (2015). <https://doi.org/10.1038/nrc3932>
43. Iben Daugaard, Thomas Birkballe Hansen, Biogenesis and Function of Ago-Associated RNAs, *Trends in Genetics*, Volume 33, Issue 3, 2017, Pages 208-219, ISSN 0168-9525, <https://doi.org/10.1016/j.tig.2017.01.003>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168952517300033>)
44. Jakub O. Westholm, Eric C. Lai, Mirtrons: microRNA biogenesis via splicing, *Biochimie*, Volume 93, Issue 11, 2011, Pages 1897-1904, ISSN 0300-9084, <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2011.06.017>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300908411002136>)
45. de Abreu, R. C., Fernandes, H., da Costa Martins, P. A., Sahoo, S., Emanuelli, C., & Ferreira, L. (2020). Native and bioengineered extracellular vesicles for cardiovascular therapeutics. *Nature reviews. Cardiology*, 17(11), 685–697. <https://doi.org/10.1038/s41569-020-0389-5>
46. Can Gollmann-Tepeköylü, Leo Pölzl, Michael Graber, Jakob Hirsch, Felix Nägele, Daniela Lobenwein, Michael W Hess, Michael J Blumer, Elke Kirchmair, Johannes Zipperle, Carina Hromada, Severin Mühleder, Hubert Hackl, Martin Hermann, Hemse Al Khamisi, Martin Förster, Michael Lichtenauer, Rainer Mittermayr, Patrick Paulus, Helga Fritsch, Nikolaos Bonaros, Rudolf Kirchmair, Joost P G Sluijter, Sean Davidson, Michael Grimm, Johannes Holfeld. miR-19a-3p containing exosomes improve function of ischaemic myocardium upon shock wave

- therapy, *Cardiovascular Research*, Volume 116, Issue 6, 1 May 2020, Pages 1226–1236, <https://doi.org/10.1093/cvr/cvz209>
47. Vicencio, Y., Zhang, L., Li, Y., Chen, L., Wang, X., Guo, W., Zhang, X., Qin, G., He, S. H., Zimmerman, A., Liu, Y., Kim, I. M., Weintraub, N. L., & Tang, Y. (2015). Exosomes/microvesicles from induced pluripotent stem cells deliver cardioprotective miRNAs and prevent cardiomyocyte apoptosis in the ischemic myocardium. *International journal of cardiology*, 192, 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.05.020>
48. Minghua, W., Zhijian, G., Chahua, H., Qiang, L., Minxuan, X., Luqiao, W., Weifang, Z., Peng, L., Biming, Z., Lingling, Y., Zhenzhen, W., Jianqing, X., Huihui, B., Xiaozhong, W., & Xiaoshu, C. (2018). Plasma exosomes induced by remote ischaemic preconditioning attenuate myocardial ischaemia/reperfusion injury by transferring miR-24. *Cell death & disease*, 9(3), 320. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0274-x>
49. Kristin M. Luther, Lauren Haar, Myc McGuinness, Yang Wang, Thomas L. Lynch IV, Anh Phan, Yang Song, Zilong Shen, George Gardner, Gina Kuffel, Xiaoping Ren, Michael J. Zilliox, W. Keith Jones, Exosomal miR-21a-5p mediates cardioprotection by mesenchymal stem cells, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, Volume 119, 2018, Pages 125-137, ISSN 0022-2828, <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2018.04.012>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022282818301408>)
50. Teresa M. Ribeiro-Rodrigues, Tiago L. Laundos, Rita Pereira-Carvalho, Daniela Batista-Almeida, Ricardo Pereira, Vanessa Coelho-Santos, Ana P. Silva, Rosa Fernandes, Monica Zuzarte, Francisco J. Enguita, Marina C. Costa, Perpetua Pinto-do-Ó, Marta T. Pinto, Pedro Gouveia, Lino Ferreira, Justin C. Mason, Paulo Pereira, Brenda R. Kwak, Diana S. Nascimento, Henrique Girão, Exosomes secreted by cardiomyocytes subjected to ischaemia promote cardiac angiogenesis, *Cardiovascular Research*, Volume 113, Issue 11, September 2017, Pages 1338–1350, <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx118>
51. de Couto, G., Gallet, R., Cambier, L., Jaghatspanyan, E., Makkar, N., Dawkins, J. F., Berman, B. P., & Marbán, E. (2017). Exosomal MicroRNA

- Transfer Into Macrophages Mediates Cellular Postconditioning. *Circulation*, 136(2), 200–214. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024590>
52. Khan, M., Nickoloff, E., Abramova, T., Johnson, J., Verma, S. K., Krishnamurthy, P., Mackie, A. R., Vaughan, E., Garikipati, V. N., Benedict, C., Ramirez, V., Lambers, E., Ito, A., Gao, E., Misener, S., Luongo, T., Elrod, J., Qin, G., Houser, S. R., Koch, W. J., ... Kishore, R. (2015). Embryonic stem cell-derived exosomes promote endogenous repair mechanisms and enhance cardiac function following myocardial infarction. *Circulation research*, 117(1), 52–64. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.305990>
53. Mathiyalagan, P., Liang, Y., Kim, D., Misener, S., Thorne, T., Kamide, C. E., Klyachko, E., Losordo, D. W., Hajjar, R. J., & Sahoo, S. (2017). Angiogenic Mechanisms of Human CD34+ Stem Cell Exosomes in the Repair of Ischemic Hindlimb. *Circulation research*, 120(9), 1466–1476. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.310557>
54. Lugo-Gavidia, L. M., Burger, D., Matthews, V. B., Nolde, J. M., Galindo Kiuchi, M., Carnagarin, R.,... & Schlaich, M. P. (2021). Role of Microparticles in Cardiovascular Disease: Implications for Endothelial Dysfunction, Thrombosis, and Inflammation. *Hypertension*, 77(6), 1825-1844.
55. Peng, Y., Zhao, J.-L., Peng, Z.-Y., Xu, W.-F., & Yu, G.-L. (2020). Exosomal miR-25-3p from mesenchymal stem cells alleviates myocardial infarction by targeting pro-apoptotic proteins and EZH2. *Cell Death & Disease*, 11(5), 317. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2545-6>
56. Zheng, X., Hermann, D. M., Bähr, M., & Doeppner, T. R. (2021). The role of small extracellular vesicles in cerebral and myocardial ischemia—Molecular signals, treatment targets, and future clinical translation. *Stem Cells*, 39(4), 403-413. <https://doi.org/10.1002/stem.3329>
57. Na Wang, Caiyu Chen, Dezhong Yang, Qiao Liao, Hao Luo, Xinquan Wang, Faying Zhou, Xiaoli Yang, Jian Yang, Chunyu Zeng, Wei Eric Wang. (2017). Mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles, via miR-210, improve infarcted cardiac function by promotion of angiogenesis, *Biochimica*

et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease, Volume 1863, Issue 8, Pages 2085-2092, ISSN 0925-4439, <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.02.023>.

(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925443917300728>)

58. Guan Y, Song X, Sun W, Wang Y, Liu B. (2019). Effect of hypoxia-induced microRNA-210 expression on cardiovascular disease and the underlying mechanism. *Oxid Med Cell Longev*; 2019:1-12.
59. Fan, Z., Qu, X., Chu, P., Gao, Y., Gao, X., Chen, S., & Tian, N. (2018). MicroRNA-210 promotes angiogenesis in acute myocardial infarction. *Molecular Medicine Reports*, 17, 5658-5665. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8620>
60. Zhu, L. P., Tian, T., Wang, J. Y., He, J. N., Chen, T., Pan, M., Xu, L., Zhang, H. X., Qiu, X. T., Li, C. C., Wang, K. K., Shen, H., Zhang, G. G., & Bai, Y. P. (2018). Hypoxia-elicited mesenchymal stem cell-derived exosomes facilitates cardiac repair through miR-125b-mediated prevention of cell death in myocardial infarction. *Theranostics*, 8(22), 6163–6177. <https://doi.org/10.7150/thno.28021>
61. Xiao, C., Wang, K., Xu, Y., Hu, H., Zhang, N., Wang, Y.,... & Hu, X. (2018). Transplanted mesenchymal stem cells reduce autophagic flux in infarcted hearts via the exosomal transfer of miR-125b. *Circulation research*, 123(5), 564-578. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.312758>
62. Liang, X., Zhang, L., Wang, S., Han, Q., & Zhao, R. C. (2016). Exosomes secreted by mesenchymal stem cells promote endothelial cell angiogenesis by transferring miR-125a. *Journal of cell science*, 129(11), 2182-2189. <https://doi.org/10.1242/jcs.170373>
63. Jiwen Liu, Mei Jiang, Shengqiong Deng, Jide Lu, Hui Huang, Yu Zhang, Peihua Gong, Xumin Shen, Huanjun Ruan, Mingming Jin, Hairong Wang. (2018). miR-93-5p-Containing Exosomes Treatment Attenuates Acute Myocardial Infarction-Induced Myocardial Damage, *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, Volume 11, Pages 103-115, ISSN 2162-2531, <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2018.01.010>.
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2162253118300118>)

64. Zhang, B., Wu, X., Zhang, X., Sun, Y., Yan, Y., Shi, H.,... & Xu, W. (2015). Human umbilical cord mesenchymal stem cell exosomes enhance angiogenesis through the Wnt4/ β -catenin pathway. *Stem cells translational medicine*, 4(5), 513-522. <https://doi.org/10.5966/sctm.2014-0267>
65. Kang, K., Ma, R., Cai, W., Huang, W., Paul, C., Liang, J., ... & Wang, Y. (2015). Exosomes secreted from CXCR4 overexpressing mesenchymal stem cells promote cardioprotection via Akt signaling pathway following myocardial infarction. *Stem Cells International*. <https://doi.org/10.1155/2015/659890>
66. Ma, J., Zhao, Y., Sun, L., Sun, X., Zhao, X., Sun, X.,... & Zhu, W. (2017). Exosomes derived from AKT-modified human umbilical cord mesenchymal stem cells improve cardiac regeneration and promote angiogenesis via activating platelet-derived growth factor D. *Stem cells translational medicine*, 6(1), 51-59. <https://doi.org/10.5966/sctm.2016-0038>
67. Gonzalez-King, H., García, N. A., Ontoria-Oviedo, I., Ciria, M., Montero, J. A., & Sepúlveda, P. (2017). Hypoxia inducible factor-1 α potentiates jagged 1-mediated angiogenesis by mesenchymal stem cell-derived exosomes. *Stem cells*, 35(7), 1747-1759. <https://doi.org/10.1002/stem.2618>
68. Kim, J.O., Park, J.H., Kim, T. et al. (2018). A novel system-level approach using RNA-sequencing data identifies miR-30-5p and miR-142a-5p as key regulators of apoptosis in myocardial infarction. *Sci Rep* 8, 14638. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33020-x>
69. Jia, K., Shi, P., Han, X., Chen, T., Tang, H., & Wang, J. (2016). Diagnostic value of miR-30d-5p and miR-125b-5p in acute myocardial infarction. *Molecular Medicine Reports*, 14, 184-194. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5246>
70. Zhang J, Ma J, Long K, Qiu W, Wang Y, Hu Z, Liu C, Luo Y, Jiang A, Jin L, Tang Q, Wang X, Li X, Li M. (2017). Overexpression of Exosomal Cardioprotective miRNAs Mitigates Hypoxia-Induced H9c2 Cells Apoptosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(4):711. <https://doi.org/10.3390/ijms18040711>

71. He F, Liu H, Guo J, Yang D, Yu Y, Yu J, Yan X, Hu J, Du Z. (2018). Inhibition of MicroRNA-124 Reduces Cardiomyocyte Apoptosis Following Myocardial Infarction via Targeting STAT3. *Cell Physiol Biochem*; 51:186-200. doi: 10.1159/000495173
72. Nojehdehi, S., Soudi, S., Hesampour, A., Rasouli, S., Soleimani, M., & Hashemi, S. M. (2018). Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cell-derived exosomes on experimental type-1 autoimmune diabetes. *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(11), 9433-9443. <https://doi.org/10.1002/jcb.27260>
73. Davies, L. C., Heldring, N., Kadri, N., & Le Blanc, K. (2017). Mesenchymal stromal cell secretion of programmed death-1 ligands regulates T cell mediated immunosuppression. *Stem cells*, 35(3), 766-776. <https://doi.org/10.1002/stem.2509>
74. Zhao, Y., Sun, X., Cao, W., Ma, J., Sun, L., Qian, H., Zhu, W., & Xu, W. (2015). Exosomes Derived from Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Relieve Acute Myocardial Ischemic Injury. *Stem cells international*, 2015, 761643. <https://doi.org/10.1155/2015/761643>
75. Romain Gallet, James Dawkins, Jackelyn Valle, Eli Simsolo, Geoffrey de Couto, Ryan Middleton, Eleni Tseliou, Daniel Luthringer, Michelle Kreke, Rachel R. Smith, Linda Marbán, Bijan Ghaleh, Eduardo Marbán, Exosomes secreted by cardiosphere-derived cells reduce scarring, attenuate adverse remodelling, and improve function in acute and chronic porcine myocardial infarction, *European Heart Journal*, Volume 38, Issue 3, 14 January 2017, Pages 201–211, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw240>
76. Adamiak, M., Cheng, G., Bobis-Wozowicz, S., Zhao, L., Kedracka-Krok, S., Samanta, A.,... & Zuba-Surma, E. K. (2018). Induced pluripotent stem cell (iPSC)-derived extracellular vesicles are safer and more effective for cardiac repair than iPSCs. *Circulation research*, 122(2), 296-309. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311769>
77. Vicencio, J. M., Yellon, D. M., Sivaraman, V., Das, D., Boi-Doku, C., Arjun, S., Zheng, Y., Riquelme, J. A., Kearney, J., Sharma, V., Multhoff, G., Hall, A. R., & Davidson, S. M. (2015). Plasma exosomes protect the myocardium

- from ischemia-reperfusion injury. *Journal of the American College of Cardiology*, 65(15), 1525–1536. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.02.026>
78. Middleton, R. C., Rogers, R. G., De Couto, G., Tseliou, E., Luther, K., Holewinski, R., Soetkamp, D., Van Eyk, J. E., Antes, T. J., & Marbán, E. (2018). Newt cells secrete extracellular vesicles with therapeutic bioactivity in mammalian cardiomyocytes. *Journal of extracellular vesicles*, 7(1), 1456888. <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1456888>
79. Yang, Y., Li, Y., Chen, X., Cheng, X., Liao, Y., & Yu, X. (2016). Exosomal transfer of miR-30a between cardiomyocytes regulates autophagy after hypoxia. *Journal of Molecular Medicine*, 94(6), 711-724. <http://dx.doi.org/10.1007/s00109-016-1387-2>
80. Davidson, S.M., Riquelme, J.A., Zheng, Y. et al. Endothelial cells release cardioprotective exosomes that may contribute to ischaemic preconditioning. *Sci Rep* 8, 15885 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34357-z>
81. Sean M Davidson, Ioanna Andreadou, Lucio Barile, Yochai Birnbaum, Hector A Cabrera-Fuentes, Michael V Cohen, James M Downey, Henrique Girao, Pasquale Pagliaro, Claudia Penna, John Pernow, Klaus T Preissner, Péter Ferdinandy, on behalf of the EU-CARDIOPROTECTION COST Action (CA16225). (2019). Circulating blood cells and extracellular vesicles in acute cardioprotection, *Cardiovascular Research*, Volume 115, Issue 7, Pages 1156–1166, <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy314>
82. Chiva-Blanch G, Laake K, Myhre P, Bratseth V, Arnesen H, et al. (2017) Platelet-, monocyte-derived and tissue factor-carrying circulating microparticles are related to acute myocardial infarction severity. *PLOS ONE* 12(2): e0172558. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172558>
83. Hartopo, A. B., Puspitawati, I., Gharini, P. P., & Setianto, B. Y. (2016). Platelet microparticle number is associated with the extent of myocardial damage in acute myocardial infarction. *Archives of medical science: AMS*, 12(3), 529–537. <https://doi.org/10.5114/aoms.2016.59926>
84. Yuchen Zhang, Junjun Cheng, Fang Chen, Changyan Wu, Junmeng Zhang, Xuejun Ren, Yu Pan, Bin Nie, Quan Li, Yu Li (2017). Circulating endothelial

- microparticles and miR-92a in acute myocardial infarction. *Biosci Rep*; 37 (2): BSR20170047. doi: <https://doi.org/10.1042/BSR20170047>
85. Sudheer Koganti, Despina Eleftheriou, Paul A. Brogan, Tushar Kotecha, Ying Hong, Roby D. Rakhit. (2017). Microparticles and their role in coronary artery disease, *International Journal of Cardiology*, Volume 230, Pages 339-345, ISSN 0167-5273, <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.12.108>.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167527316345995>
86. Chrysostomos A. Mavroudis, Despina Eleftheriou, Ying Hong, Bikash Majumder, Sudheer Koganti, Ray Sapsford, Janet North, Mark Lowdell, Nigel Klein, Paul Brogan, Roby D. Rakhit. (2017). Microparticles in acute coronary syndrome, *Thrombosis Research*, Volume 156, Pages 109-116, ISSN 0049-3848, <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2017.06.003>.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0049384817303596>
87. Xuebo Xu, Yueyang Lai, Zi-Chun Hua; Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials. *Biosci Rep* 31 January 2019; 39 (1): BSR20180992. doi: <https://doi.org/10.1042/BSR20180992>
88. Thanh Kha Phan, Dilara Ceyda Ozkocak, Ivan Ka Ho Poon; Unleashing the therapeutic potential of apoptotic bodies. *Biochem Soc Trans* 30 October 2020; 48 (5): 2079–2088. doi: <https://doi.org/10.1042/BST20200225>
89. Brock, C.K., Wallin, S.T., Ruiz, O.E. et al. (2019). Stem cell proliferation is induced by apoptotic bodies from dying cells during epithelial tissue maintenance. *Nat Commun* 10, 1044. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09010-6>
90. Pu, Y., Li, C., Qi, X., Xu, R. et al. (2023). Extracellular Vesicles from NMN Preconditioned Mesenchymal Stem Cells Ameliorated Myocardial Infarction via miR-210-3p Promoted Angiogenesis. *Stem Cell Reviews and Reports*, 1-16. <https://doi.org/10.1007/s12015-022-10499-6>
91. Comità S, Rubeo C, Giordano M, Penna C, Pagliaro P. (2023). Pathways for Cardioprotection in Perspective: Focus on Remote Conditioning and Extracellular Vesicles. *Biology*; 12(2):308. <https://doi.org/10.3390/biology12020308>

92. Karnas E, Dudek P and Zuba-Surma EK. (2023). Stem cell- derived extracellular vesicles as new tools in regenerative medicine - Immunomodulatory role and future perspectives. *Front. Immunol.* 14:1120175. doi: 10.3389/fimmu.2023.1120175
93. Chaoshan Han, Junjie Yang, Jiacheng Sun, Gangjian Qin. (2022). Extracellular vesicles in cardiovascular disease: Biological functions and therapeutic implications, *Pharmacology & Therapeutics*, Volume 233, 108025, ISSN 0163-7258, <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2021.108025>.
94. Lianbo Shao, Yihuan Chen, Jingjing Li, Jingfan Chao, Ziyang Yang, Yinglong Ding, Han Shen, Yueqiu Chen, Zhenya Shen. (2023). Hypoxia-Elicited Mesenchymal Stem Cell-Derived Small Extracellular Vesicles Alleviate Myocardial Infarction by Promoting Angiogenesis through the miR-214/Sufu Pathway, *Stem Cells International*, vol. 2023, Article ID 1662182, 14 pages. <https://doi.org/10.1155/2023/1662182>
95. Pranay Narang, Morish Shah, Vladimir Beljanski. (2022). Exosomal RNAs in diagnosis and therapies, *Non-coding RNA Research*, Volume 7, Issue 1, Pages 7-15, ISSN 2468-0540. <https://doi.org/10.1016/j.ncrna.2022.01.001>
96. De Sousa, K. P., Rossi, I., Abdullahi, M., Ramirez, M. I., Stratton, D., & Inal, J. M. (2023). Isolation and characterization of extracellular vesicles and future directions in diagnosis and therapy. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 15(1), e1835. <https://doi.org/10.1002/wnan.1835>
97. Zainuddin Quadri, Ahmed Elsherbini, Erhard Bieberich. (2022). Extracellular vesicles in pharmacology: Novel approaches in diagnostics and therapy, *Pharmacological Research*, Volume 175, 105980, ISSN 1043-6618, <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105980>
98. Ng CY, Kee LT, Al-Masawa ME, Lee QH, Subramaniam T, Kok D, Ng MH, Law JX. (2022). Scalable Production of Extracellular Vesicles and Its Therapeutic Values: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(14):7986. <https://doi.org/10.3390/ijms23147986>
99. Esmaeili, A., Alini, M., Baghaban Eslaminejad, M. et al. Engineering strategies for customizing extracellular vesicle uptake in a therapeutic

- context. *Stem Cell Res Ther* 13, 129 (2022). <https://doi.org/10.1186/s13287-022-02806-2>
100. Viola M, de Jager SCA, Sluijter JPG. (2021). Targeting Inflammation after Myocardial Infarction: A Therapeutic Opportunity for Extracellular Vesicles? *International Journal of Molecular Sciences*; 22(15):7831. <https://doi.org/10.3390/ijms22157831>
101. György, B., Hung, M. E., Breakefield, X. O., & Leonard, J. N. (2015). Therapeutic applications of extracellular vesicles: clinical promise and open questions. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 55, 439-464. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010814-124630>
102. Mayo Clinic. (19 de julio de 2022). Ataque cardiaco. Recuperado el 11 de abril de 2023 de <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/heart-attack/diagnosis-treatment/drc-20373112>
103. Braunwald, Eugene. (2012). The treatment of acute myocardial infarction: the Past, the Present, and the Future, *European Heart Journal. Acute Cardiovascular Care*, Volume 1, Issue 1, Pages 9–12, <https://doi.org/10.1177/2048872612438026>
104. Santander, S. F., Márquez, M. F., Duque, M. P., Sánchez, R. O., De la Peña Almaguer, E., & Lidt, G. E. (2004). Daño miocárdico por reperfusión. *Rev Esp Cardiol*, 57(Supl 1), 9-21. DOI: [10.1157/13067415](https://doi.org/10.1157/13067415)
105. Silva Guachilema, D. R., Salazar, J. C., Correa Michilena, J., & Villagómez Toral, J. S. (2019). Importancia de las troponinas en el diagnóstico de infarto agudo de miocardio (IAM). *RECIAMUC*, 3(4), 22-40. [https://doi.org/10.26820/reciamuc/3.\(4\).octubre.2019.22-40](https://doi.org/10.26820/reciamuc/3.(4).octubre.2019.22-40)
106. Cheng, M., Yang, J., Zhao, X. et al. (2019). Circulating myocardial microRNAs from infarcted hearts are carried in exosomes and mobilise bone marrow progenitor cells. *Nat Commun* 10, 959. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08895-7>
107. Aydin, S., Ugur, K., Aydin, S., Sahin, İ., & Yardim, M. (2019). Biomarkers in acute myocardial infarction: current perspectives. *Vascular health and risk management*, 1-10. <http://dx.doi.org/10.2147/VHRM.S166157>

108. Öztürk, S., Elçin, A.E., Koca, A. et al. (2021). Therapeutic Applications of Stem Cells and Extracellular Vesicles in Emergency Care: Futuristic Perspectives. *Stem Cell Rev and Rep* 17, 390–410. <https://doi.org/10.1007/s12015-020-10029-2>
109. Zhu, W., Sun, L., Zhao, P. et al. (2021). Macrophage migration inhibitory factor facilitates the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells derived exosomes in acute myocardial infarction through upregulating miR-133a-3p. *J Nanobiotechnol* 19, 61. <https://doi.org/10.1186/s12951-021-00808-5>
110. Bel, M. S., Soldevila, J. G., & Llanos, J. O. (2003). Marcadores biológicos de necrosis miocárdica. *Revista española de cardiología*, 56(7), 703-720. [10.1157/13049653](https://doi.org/10.1157/13049653)