



Universidad
Zaragoza

Grado en Medicina

Trabajo Fin de Grado

MicroRNAs en Insuficiencia Cardíaca: Papel Etiológico

MicroRNAs in Heart Failure: the Etiological Role

Departamento de Farmacología
y Fisiología.

Área de Fisiología.

Curso académico

2017-2018

Autor

Valentín Ruiz de Santaquiteria Torres

Director

Ignacio Giménez López



Facultad de Medicina
Universidad Zaragoza

unizar.es

Índice

0. Resumen / <i>Abstract</i>	3
1. Introducción.....	5
2. Fisiología y Biología molecular de los microRNAs.....	5
2.1. Biogénesis.....	6
2.2. Vías alternativas.....	8
2.3. Nomenclatura.....	9
2.4. Papel de los microRNAs.....	11
3. Papel etiológico de los microRNA en la insuficiencia cardiaca.....	11
3.1. Insuficiencia cardiaca.....	11
Definición de insuficiencia cardiaca.....	11
Epidemiología y problemática sociosanitaria.....	12
Posible solución: microRNAs.....	13
3.2. Hipertrofia miocárdica.....	13
3.3. Hipertensión arterial.....	15
3.4. Isquemia miocárdica.....	18
Aterosclerosis.....	18
Apoptosis, Necroptosis y Autofagocitosis.....	21
3.5. Arritmias: Fibrilación auricular.....	23
3.6. Miocardiopatía diabética.....	24
4. Perspectivas de futuro.....	25
4.1. Aplicación de técnicas de alto rendimiento (-ómicas).....	25
Técnicas de detección de microRNAs.....	25
Técnicas de identificación de dianas de microRNAs.....	27
4.2. MicroRNAs en la regeneración miocárdica.....	28
Regeneración celular cardiaca.....	29
5. Conclusiones.....	31
6. Bibliografía.....	33

Resumen

Objetivos: El objetivo de la revisión es recoger la evidencia actual disponible sobre la relación fisiopatológica, diagnóstica y terapéutica de los microRNAs con la insuficiencia cardiaca.

Metodología: Se han utilizado 94 artículos obtenidos de bases de datos científicas como *PubMed* y *ScienceDirect*, recopilando la bibliografía mediante la plataforma *Mendeley*. Se ha organizado la información obtenida en diferentes tablas que contienen la interacción de los microRNAs con las diferentes causas de insuficiencia cardiaca aquí tratadas.

Contenido: Los microRNAs (miRNAs o miRs) son moléculas de RNA no codificante de cadena simple, formados por entre 17-25 nucleótidos. Éstos regulan la actividad de proteínas, actuando sobre la traducción o síntesis proteica. La insuficiencia cardiaca es una enfermedad con una elevada incidencia y una importante mortalidad, así como con causas potencialmente corregibles. Se han seleccionado cinco causas de insuficiencia cardiaca (hipertrofia miocárdica, hipertensión arterial, isquemia miocárdica, fibrilación auricular y miocardiopatía diabética), explicándose su fisiopatología y como se relaciona con los respectivos microRNAs. Se exploran las diferentes perspectivas futuras diagnósticas y terapéuticas de los microRNAs. Existen diferentes técnicas de detección de microRNAs y de RNA mensajero diana basadas en nuevas técnicas de secuenciación (-ómicas), gracias a las cuales se han conseguido crear bibliotecas de microRNAs de libre acceso: miRBase, Rfam o miRGen. Cabe destacar una nueva línea terapéutica consistente en la regeneración miocárdica.

Conclusiones: Se han estimado los microRNAs más sensibles para diagnosticar insuficiencia cardiaca, así como los más específicos.

Palabras clave: insuficiencia cardiaca, microRNA, miRNA, hipertrofia cardiaca, hipertensión, infarto miocárdico, aterosclerosis, fibrilación auricular, miocardiopatía diabética, ómicas, regeneración miocárdica.

Abstract

Aims: To recollect the available state of art about pathophysiology, diagnostics and therapeutics of microRNAs in heart disease.

Methods: It has been chosen 94 scientific articles from databases such as PubMed or ScienceDirect organizing the bibliography through Mendeley platform. It has been lined up the information acquired in diverse tables which contains microRNAs interactions with the different heart disease causes that have been handled here.

Content: MicroRNAs (miRNAs o miRs) are small non-coding RNAs (17-25 nucleotides in length) that control gene expression by promoting degradation or repressing translation of target mRNAs. Heart disease has high impact and mortality, as well as potentially rectifiable etiology. It has been chosen five causes of heart disease (myocardial hypertrophy, arterial hypertension, myocardial infarction, atrial fibrillation and diabetic cardiomyopathy), having an explanation of their pathophysiology and how is it related to each microRNA. It has been explored different new insights on microRNA diagnostics and therapeutics. There are different microRNA detection technologies and also methods to identify miRNA targets based on new computational technologies (-omics), thanks to whom it has been possible to create free microRNA libraries such as miRBase, Rfam or miRGen. It should be pointed out a new therapeutic line consisting of myocardial regeneration.

Conclusions: It has been estimated the most sensitive and the most specific microRNA in heart disease diagnostic.

Key words: heart failure, microRNA, miRNA, cardiac hypertrophy, hypertension, myocardial infarction, atherosclerosis, atrial fibrillation, diabetic cardiomyopathy, omics, cardiac regeneration.

1. Introducción

La insuficiencia cardiaca es una enfermedad cuya incidencia sigue en aumento. Debido a que presenta una mortalidad elevada y causas potencialmente corregibles, se decide hacer una revisión bibliográfica acerca de los microRNAs como nuevos marcadores diagnósticos, pronósticos y terapéuticos de insuficiencia cardiaca.

Los microRNAs (miRNAs o miRs) son moléculas de RNA no codificante de cadena simple, formados por entre 17-25 nucleótidos. Éstos regulan la actividad de proteínas, actuando sobre la traducción o síntesis proteica. Para una comprensión completa de los miRNAs se ha considerado oportuno insistir en la fisiología y biología molecular de los mismos, comparándola a su vez con los procesos biomoleculares del RNA de interferencia.

Se han seleccionado varias causas de insuficiencia cardiaca (hipertrofia miocárdica, hipertensión arterial, isquemia miocárdica y fibrilación auricular), basándose en patologías clásicas que frecuentemente desembocan en fallo cardiaco. Asimismo, debido a la creciente incidencia de obesidad y diabetes, se ha querido resaltar la miocardiopatía diabética como causa importante de insuficiencia cardiaca. Se han revisado los diferentes microRNAs que se sobreexpresan o se inactivan en dichas patologías, de modo que se podrá estimar los microRNAs más sensibles de insuficiencia cardiaca y específicos de cada una de sus causas aquí tratadas.

Por último, se explican las técnicas de alto rendimiento que permiten identificar los distintos microRNAs y las diferentes regiones diana de RNA mensajero, así como nuevas líneas de investigación terapéutica en la regeneración miocárdica a partir de miRNAs.

2. Fisiología y Biología molecular de los microRNA

Se ha visto que la mayoría del genoma es transcrito a RNAs. Sin embargo, solo el 1-2% del genoma humano codifica para proteínas, dividiendo el mundo de los RNA en dos mitades: por un lado los RNAs con potencial codificador y por otro, los RNAs no codificantes. Los RNAs no codificante (ncRNA) se consideran moléculas versátiles que se encargan de orquestrar la gran mayoría de los procesos celulares. Además, se pueden dividir en dos clases en función del número de nucleótidos que tengan: los RNA cortos no codificantes (sncRNA, con menos de 200 nucleótidos) y los RNA largos no codificantes (lncRNA, con más de 200 nucleótidos)(1).

Dentro de los sncRNA, los microRNAs (miRNAs o miRs) son los más conocidos y estudiados, formados por entre 17-25 nucleótidos. Son moléculas de RNA no codificante de cadena simple, que controlan la expresión génica de animales, plantas y células eucariotas, que han surgido como reguladores postranscripcionales de la expresión génica, controlando aproximadamente el 60% de todos los genes codificantes de proteínas en mamíferos. Los miRNAs participan en la regulación de casi todo evento celular: desarrollo, diferenciación, proliferación y apoptosis (2).

2.1. Biogénesis

Gracias a modelos genéticos como el nemátodo *Caenorhabditis elegans*, se identificaron pequeñas moléculas de RNA no codificante y se creó el RNA de interferencia (RNAi). El RNAi forma parte de un método de silenciamiento genético, cuyo descubrimiento en 1998 ha demostrado el potencial clínico de pequeños RNAs sintéticos de interferencia (siRNA) o pequeñas horquillas de RNA (shRNAs). En la misma línea se han descubierto moléculas endógenas (miRNAs) o exógenas (dsRNA, RNAs de cadena doble), que podrían activar determinados genes, formando parte del método de activación de RNA (RNAa)(3).

Se puede comparar el mecanismo molecular del RNAi (**Figura 1**) con el del miRNA, puesto que sus componentes son similares. Se inicia con la introducción de una doble cadena de RNA (dsRNA) (**A**) que, mediante una enzima RNAsIII-like llamada Dicer, es procesada en un pequeño RNA de interferencia (siRNA) (**B**). Este siRNA es desenrollado por una helicasa (**C**) antes de entrar en el complejo silenciador del RNA inducido (RISC) (**D**), mediante el cual se consigue la degradación de mRNA, regulando así la expresión genética. También existen siRNAs sintéticos, que evitan el proceso del Dicer y se unen al proceso directamente a través de la helicasa (**E**) (3,4).

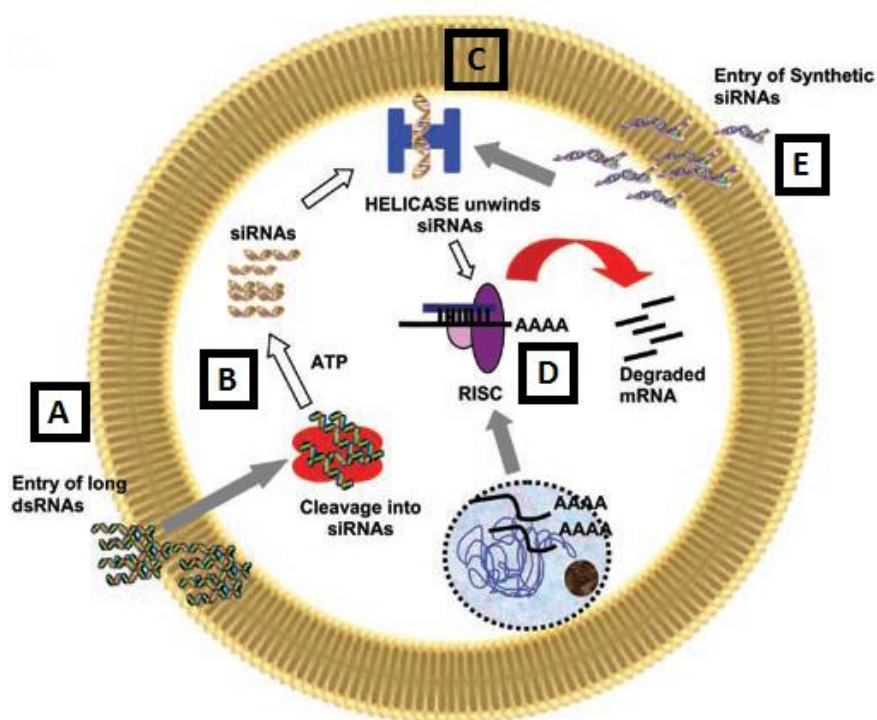


Figura 1. Mecanismo molecular del RNAi(3).

Siguiendo la **Figura 2**, se desarrolla el mecanismo molecular del miRNA. Los pri-miRs (33-35 nucleótidos) son análogos estructurales de los miRNAs que, mediante un complejo multiproteico llamado microprocesador (formado por DROSHA, RNasa III y DGCR8), localizado en el núcleo celular, se obtiene un pre-miR (**A**). El pre-miR es una horquilla de aproximadamente 70 nucleótidos, con dos extremos: 5'-fosfato y 3'. El extremo 3' es reconocido por una exportina-5 (EXP5, codificada por XPO5), que transporta el pre-miR al citoplasma a través de un mecanismo dependiente de Ran-GTP (**B**). Una vez liberado en el citoplasma, el pre-miR es procesado en forma

de dobletes (de al menos 19 nucleótidos) a través de un complejo formado por la RNasa III Dicer, junto con un fijador de proteínas transactivador de RNA (TRBP). Dicer/TRBP divide el doblete de pre-miR en dos parejas de RNA, seleccionándose como miRNA maduro a la pareja más inestable en el segmento 5' (en ocasiones, la pareja seleccionada es la que tiene un nucleótido U en la primera posición) (C). Esta pareja se une a una proteína llamada Argonauta (AGO-2), formando el RISC, que es el efector citoplasmático del miRNA, que contiene una única cadena de miRNA, que guiará al RISC hacia su objetivo: el mRNA. Por lo tanto, el ensamblaje del RISC está mediado por un complejo multiproteico compuesto por el Dicer, la TRBP y el AGO-2, formando el conocido como Complejo de Carga del RISC (RLC) (D). El segmento 5' del miRNA se une al segmento 3' del mRNA objetivo, inhibiendo su transcripción o degradando el mRNA, en función del grado de complementariedad entre el miRNA y el mRNA objetivo (E) (2,5,6).

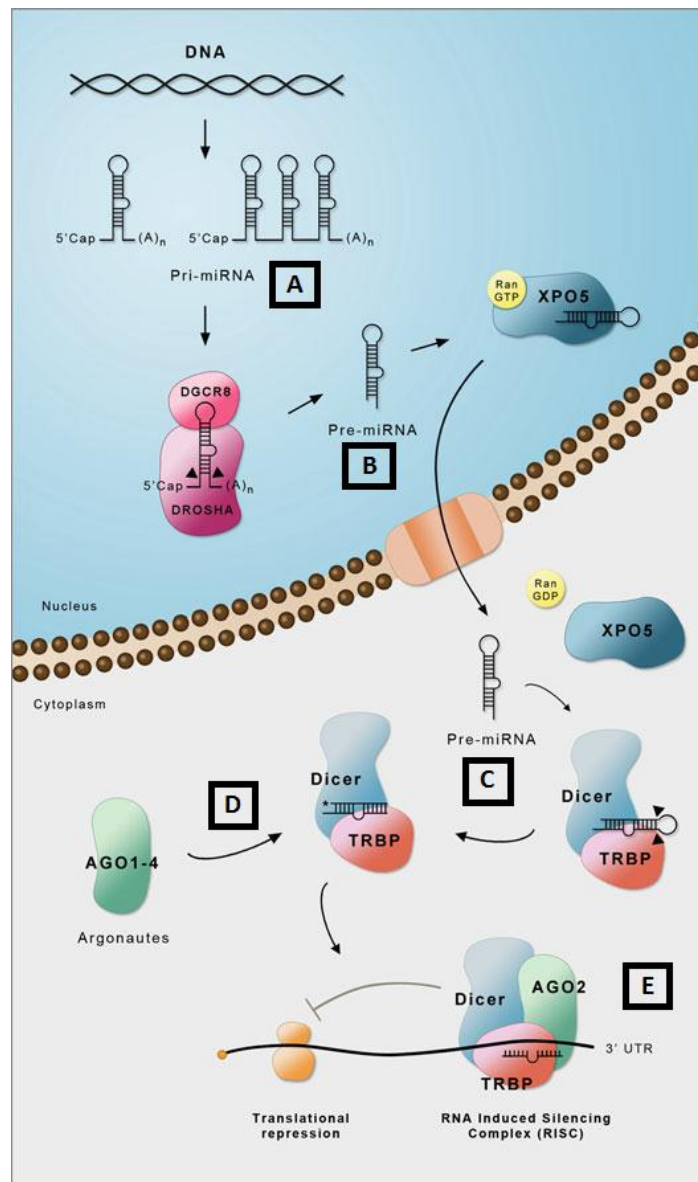


Figura 2. Mecanismo molecular del miRNA(2).

En ambos mecanismos, tanto el siRNA como el miRNA son capaces de inhibir la transcripción o degradar el mRNA objetivo. Esto lo consiguen mediante la interacción con el complejo multiproteico RISC, que permite la unión de secuencias complementarias del siRNA o el miRNA con el mRNA

canónico vía EXP5. Del mismo modo, pequeñas horquillas de RNA endógeno, directamente transcritas, se pueden unir a EXP-5(5).

Además, existen otros pequeños RNAs que se originan de otros RNAs no codificantes, como son los tRNAs o precursores similares a tRNAs (snoRNAs) o pequeños RNAs nucleares similares a RNAs virales, que tampoco requieren del procesamiento de Drosha, ni de la EXP5, sino que directamente se acoplan al Dicer(5).

La mayoría de vías alternativas dependen del Dicer, sin embargo hay algunas que no requieren de este proceso y se valen de la actividad catalítica de AGO2 para unirse al proceso de maduración del mRNA(5).

De este modo, a partir de diferentes tipos de ncRNA, se transcriben diferentes pre-miRNAs, que son procesados en dobletes de miRNA, como refleja la **Figura 4**.

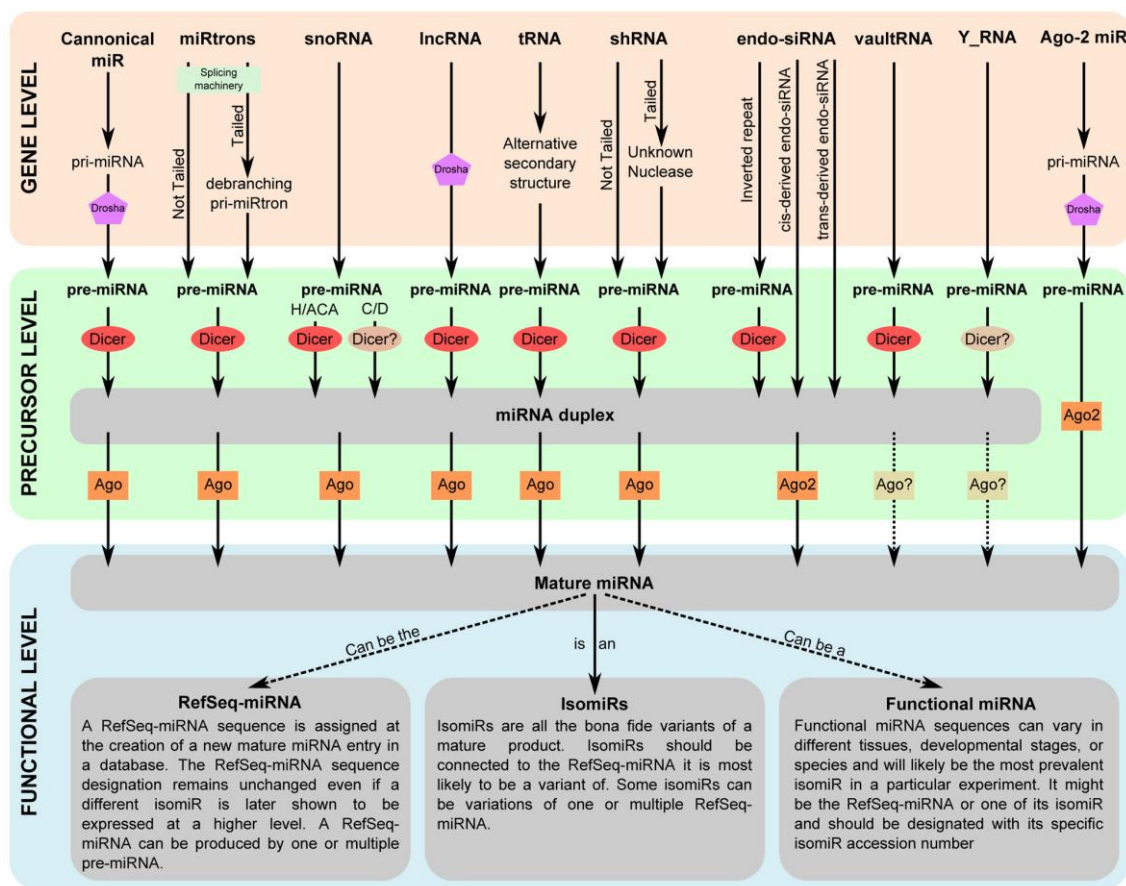


Figura 4. Diversos orígenes genéticos y vías de biogénesis hacia miRNAs funcionantes(8).

2.3. Nomenclatura

A excepción de unos pocos miRNAs que fueron descubiertos pronto, la nomenclatura de los miRNAs maduros consiste en el prefijo "miR" y el número de identificación, que se designa de manera secuencial, en función del orden de publicación (ejemplo, miR-1, miR-2,...miR-89, etc.). Los pre-miRNAs se indican con cursiva y el prefijo en minúsculas "mir". Prefijos de tres o cuatro letras

indican la especie (ejemplo hsa-miR-101 en *Homo sapiens*). Una letra adicional al final sirve para diferenciar miRNAs con similares secuencias a excepción de uno o dos nucleótidos (ejemplo, miR-123a y miR-123b). Un número adicional al final sirve para diferenciar dos miRNA maduros idénticos que se formaron a partir de pre-miRNAs diferentes (miR-194-1 y miR-194-2). Dos miRNA que son diferentes y se han originado del mismo precursor, se nominan de acuerdo con su localización en la horquilla (ejemplo, miR-17-5p y miR-17-3p) (9,10).

Los genes codificantes para miRNAs se localizan a lo largo de todo el genoma, y una gran proporción de ellos se encuentran agrupados, dando lugar a diferentes miRNAs, es decir, distintos miRNAs pueden proceder de un mismo pri-miRNA, codificado por un mismo grupo de genes. Esta organización genómica permite una expresión simultánea de miRs similares, conduciendo a un efecto sinérgico en su función. Sin embargo, los miRNAs, también pueden proceder de unidades transcripcionales autónomas(1,2,11). Cabe destacar que los miRNAs humanos están localizados en todos los cromosomas excepto el cromosoma Y, además están distribuidos de manera no aleatoria en el genoma humano(2).

Existen cuatro grupos de miRs en función de su localización genómica (véase **Figura 5**):

- miR intrónico en unidades transcripcionales no codificantes (**a**).
- miR exónico en unidades transcripcionales no codificantes (**b**).
- miR intrónico en unidades transcripcionales codificantes (**c**).
- miR exónico en unidades transcripcionales codificantes (**d**).

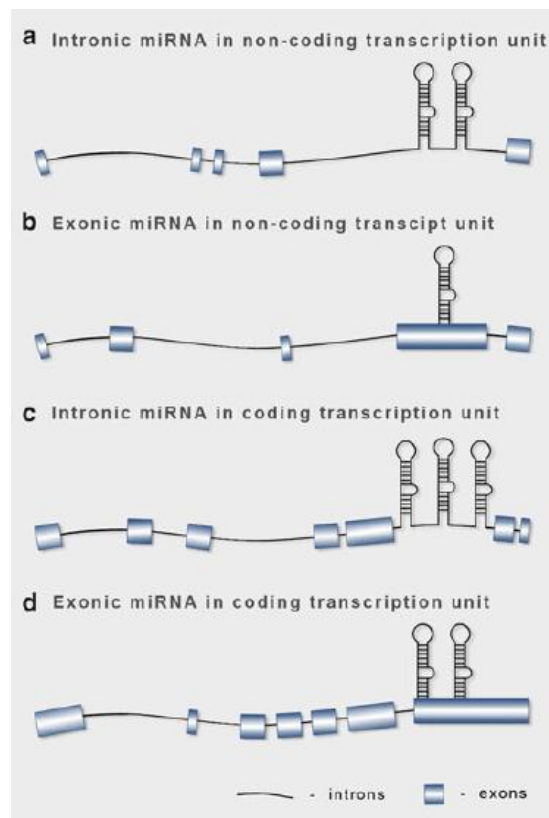


Figura 5. Localización genómica y estructura de los microRNA(2).

2.4. Papel de los microRNAs

Los miRNA regulan la actividad de proteínas, actuando sobre la traducción o síntesis proteica. Su transcripción esta desempeñada por la RNA Pol II, controlada por los factores de transcripción de la RNA pol II y por reguladores epigenéticos. Además, se ha visto que la RNA Pol II es capaz de transcribir algunos miRNAs virales. Factores de transcripción como p53, MYC, ZEB1 y ZEB2 o MYOD1 regulan la expresión de los miRNA, tanto positiva como negativamente. La metilación del DNA y las modificaciones de histonas, también contribuyen a la regulación genética de los miRNA(5). Los miRNAs, a su vez, pueden verse regulados por factores externos como son los virus (lentivirus), el ejercicio, la etnia, alteraciones genéticas, etc. Además, pueden actuar complementándose varios miRNA.

La importancia de los miRNAs radica en que su expresión se ha visto envuelta en numerosos eventos celulares durante el desarrollo animal, regulando numerosos procesos clave como la determinación celular, la proliferación o la muerte celular. Además, los miRNAs se han visto implicados en múltiples funciones biológicas como la respuesta inmune, la secreción de insulina, la síntesis de neurotransmisores, el ritmo circadiano o la replicación viral(2).

En 2008 se detectó la presencia de miRNA en suero y plasma humanos. Más adelante, han sido detectados en otros fluidos corporales como orina, saliva, líquido cefalorraquídeo y leche materna. Esto ha permitido que investigadores comparen niveles de miRNA circulantes entre pacientes y controles sanos, con la intención de encontrar utilidad diagnóstica, pronóstica o incluso terapéutica(12).

3. Papel etiológico de los microRNAs en la Insuficiencia Cardíaca

3.1. Insuficiencia cardíaca

❖ *Definición de insuficiencia cardíaca*

La Asociación Americana del Corazón (*American Heart Association, AHA*) define la insuficiencia cardíaca como un síndrome clínico complejo que puede resultar de cualquier trastorno cardíaco estructural o funcional que altera la capacidad del ventrículo de llenarse o de eyectar sangre(13). La Sociedad Europea de Cardiología (*European Society of Cardiology, ESC*) (14), por su parte, la define como un síndrome clínico caracterizado por síntomas típicos (disnea, edemas, fatiga), que puede ir acompañado de signos (presión yugular elevada, crepitantes pulmonares) causados por una anomalía estructural o funcional del corazón que produce una reducción en el gasto cardíaco o una elevación de las presiones intracardíacas en reposo o en estrés.

Se distinguen dos tipos de insuficiencia cardíaca en función de su fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI): insuficiencia cardíaca con fracción de eyección reducida (FEVI <40%) e insuficiencia cardíaca con fracción de eyección conservada (FEVI >50%). Existe una zona gris o intermedia en valores de FEVI entre el 40 y 50%. (13,15).

El mecanismo fisiopatológico de la IC con FEVI reducida (**Figura 6**) consiste en la acumulación de daño miocárdico, con una pérdida progresiva de miocardiocitos. Sus principales causas son: hipertensión arterial, cardiomiopatías o infarto de miocardio. Esto conlleva una dilatación ventricular izquierda con un remodelado excéntrico de dicho ventrículo(15).

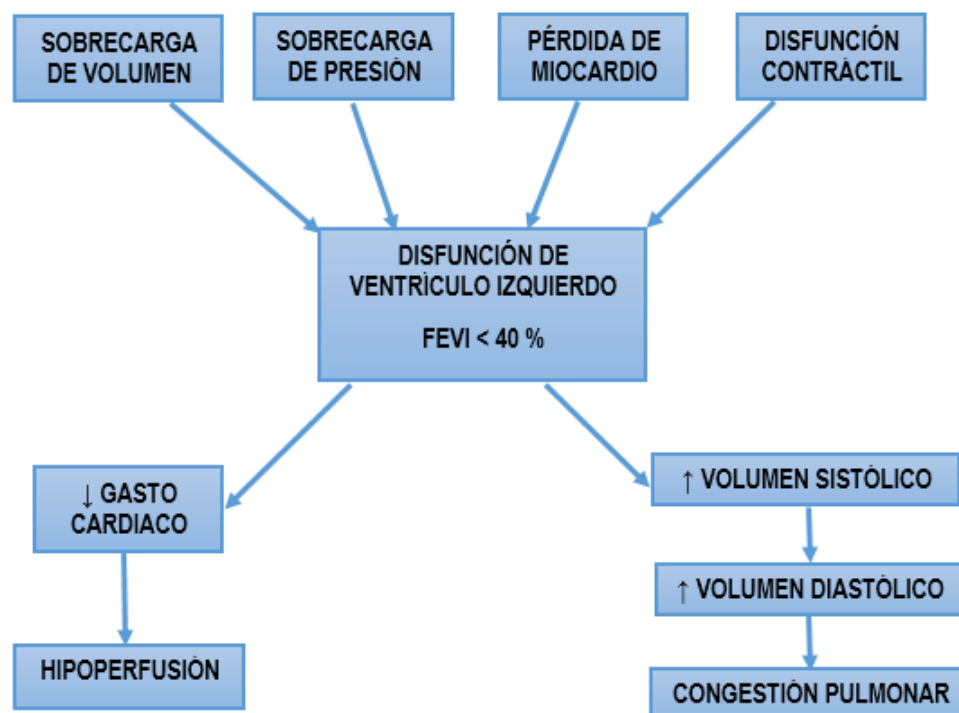


Figura 6. Fisiopatología de la IC con FEVI reducida(16).

Una sobrecarga de volumen y/o de presión, así como una pérdida de miocardio o una disfunción en la contractilidad desembocan en una disfunción ventricular izquierda (con una fracción de eyección deprimida <40%). Esto condiciona una disminución en el gasto cardíaco con la consecuente hipoperfusión. Así mismo, aumentan los volúmenes sistólicos y diastólicos, produciendo congestión pulmonar.

En el caso de la IC con FEVI preservada, enfermedades como la obesidad, la hipertensión arterial, la diabetes mellitus, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la anemia o el fracaso renal crónico, contribuyen a una hipertrofia miocardiocitaria, con fibrosis intersticial. Aquí se produce una disfunción ventricular izquierda con un remodelado concéntrico(15), debido a un aumento forzado de la contractilidad, en respuesta a un incremento de las resistencias periféricas por hipertensión o patología valvular(17).

❖ **Epidemiología y problemática sociosanitaria**

Se registran aproximadamente 915.000 nuevos casos anuales de insuficiencia cardíaca en Estados Unidos. Además, la prevalencia es alta (5,7 millones en Estados Unidos) y está en aumento debido a la longevidad de la población, al aumento de la prevalencia de factores de riesgo específicos de la insuficiencia cardíaca (diabetes y obesidad, entre otros), así como a la mejora en

los tratamientos de las enfermedades cardiovasculares que prolongan la supervivencia. Se considera que la mortalidad al año y a los cinco años del diagnóstico de insuficiencia cardíaca es de aproximadamente un 20% y un 50% respectivamente. Existe una mayor prevalencia de insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada. El pronóstico de los pacientes con insuficiencia cardíaca es peor en aquellos que requieren hospitalización(18). Según la Sociedad Europea de Cardiología, la prevalencia de la insuficiencia cardíaca se sitúa aproximadamente en torno al 1-2% de la población adulta en países desarrollados, y aumenta a más del 10% en personas de 70 años o más(14).

La AHA declara que existen aspectos fundamentales de la insuficiencia cardíaca que no son bien conocidos. Propone centrar las investigaciones en la búsqueda de estrategias efectivas de manejo de pacientes con insuficiencia cardíaca con FEVI conservada, basándose en el control de la tensión arterial, así como un método convincente para el uso de biomarcadores en la optimización del tratamiento o la necesidad de mejorar la adherencia del paciente al régimen terapéutico. Destaca la necesidad de centrarse en nuevos tratamientos farmacológicos, especialmente para pacientes hospitalizados, así como terapias de regeneración celular para restaurar el miocardio(13).

❖ **Possible solución: microRNAs**

En el sistema cardiovascular, los miRNAs controlan la proliferación y diferenciación de células madres y progenitores celulares, así como células endoteliales y musculares. Además, juegan un papel crucial en el desarrollo y regeneración cardiacos. La modulación de la expresión de miRNAs puede cambiar el curso de la insuficiencia cardíaca, así como su determinación en suero puede participar en su diagnóstico y en la evaluación del pronóstico(9).

Se han seleccionado varias causas de insuficiencia cardíaca (hipertrofia miocárdica, hipertensión arterial, isquemia miocárdica y fibrilación auricular), basándose en patologías clásicas que frecuentemente desembocan en fallo cardíaco. Asimismo, debido a la creciente incidencia de obesidad y diabetes, se ha querido resaltar la miocardiopatía diabética como causa importante de insuficiencia cardíaca.

3.2. Hipertrofia miocárdica

Existe hipertrofia cardíaca tanto fisiológica como patológica. La evidencia señala que se diferencian en las distintas vías de señalización que conducen ambos procesos(15). Se han identificado 22 miRNAs cuya expresión en la hipertrofia miocárdica cambia según las dianas moleculares sobre las que intervienen. Para una revisión completa, consultar (17), (19), (20) (21), (22) (23), (24), (25) y (26). Los resultados de estas investigaciones se resumen en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Relación de microRNAs con la hipertrofia miocárdica.

	CALCINEURINA- NFAT	CAMKII	VÍA INSULÍNICA	PDE9A
miR-1	-	-	↓(20)	-
miR-9	-	-	-	↓(19)
miR-19a/b	↑(21)	-	-	↑(17,19)
miR-21	-	-	↑(22)	-
miR-22	-	-	↑(17,19)	-
miR-23a	↑(19)	-	↑(17,19)	-
miR-26b	-	-	-	↓(26)
miR-34a	-	-	↑(17)	-
miR-98	-	-	↓(19)	-
miR-101	-	-	↓(19)	-
miR-133a	-	-	↓(20)	↓(19)
miR-145	-	-	-	↓(25)
miR-150	-	-	↓(19)	-
miR-155	-	-	↑(19)	-
miR-185	-	↓(24)	-	↓(19)
miR-199a	-	-	↑(19)	-
miR-199b	↑(23)	-	-	-
miR-212/132	-	-	↑(19)	-
miR-221	-	-	↑(19)	-
miR-328	↑(17)	-	-	↑(19)
miR-350	-	-	↑(17,19)	-
miR-378	-	-	↓(19)/↑(17)	-

Existe un mecanismo dependiente de la calcineurina, que se encarga de defosforilar el factor nuclear activador de células T (NFAT), induciendo su translocación nuclear y con ello la expresión de genes involucrados en hipertrofia miocárdica(15). Se ha demostrado que la sobreexpresión de miR-19a/b es una condición prohipetrófica, inhibiendo la expresión génica de atrogin-1 y MURF-1, siendo ambos genes antihipertróficos(21). Por su parte, miR-199b, presenta el mismo mecanismo de acción, salvo que inhibe la expresión génica de Dyrk1a (23).

Existe otro mecanismo cuyo sustrato es la kinasa II dependiente de calmodulina (CaMKII), que induce el crecimiento cardiomiocitario por fosforilación de histonas deacetilasas de clase II (HDAC4 y HDAC5), con la consiguiente inhibición de la expresión del gen mediado por el factor potenciador de miocitos tipo 2 (MEF-2) y la hipertrofia cardiaca(15). En el caso de miR-185, su mecanismo consiste en inhibir CAMKII, de forma que actúa como antihipertrófico(24).

Otro de los mecanismos es el formado por la vía insulínica, cuya sobreactivación induce hipertrofia miocárdica patológica y altera la homeostasis. Además, la hiperinsulinemia crónica también produce hipertrofia por favorecer el aumento de angiotensina-II. La vía insulínica consiste en la unión de la insulina a su receptor, mediando así la fosforilación y activación del Akt, cuya sobreexpresión favorece la hipertrofia miocárdica por numerosas vías de señalización. La Akt también se activa por acción de factores de crecimiento similares a insulina (IGF-1)(15). Hua et al(20) señalan que la sobreexpresión de miR-1 y miR-133a, consiguen una disminución de IGF-I y,

por tanto, de Akt, consiguiendo un fenotipo antihipertrófico. De manera contraria, según declara Dey et al(22), miR-21 se une a Pten, modulando la activación de la vía Akt/mTOR, produciendo hipertrofia y fibrosis.

También existe otro mecanismo que depende de PDE9A. Los efectos del óxido nítrico (NO) y el péptido natriurético están mediados por un segundo mensajero, la guanosina monofosfato cíclica (cGMP). Se considera al NO un factor anti-hipertrófico. Sin embargo, existe una fosfodiesterasa selectiva de cGMP (PDE9A), que suprime la señal de cGMP, favoreciendo por tanto la hipertrofia y el remodelado cardiaco, puesto que se activa la expresión del factor nuclear de células T activadas (NFAT), regulador positivo de hipertrofia(15). Siguiendo este mecanismo se encuentra miR-145(25), como factor antihipertrófico, del mismo modo que ocurre con miR-26b(26), regulando ambos la expresión de GATA6 y GATA 4 respectivamente. GATA 4 y GATA 6 son factores de transcripción, cuya presencia favorece la activación de NFAT y por tanto la hipertrofia(19,25,26).

3.3. Hipertensión Arterial

Se define disfunción endotelial como el desbalance entre la producción y la biodisponibilidad de factores vasoconstrictores (endotelina-1 y tromboxano A2) y factores vasodilatadores (óxido nítrico, prostaciclina y Factor Hiperpolarizante Derivado del Endotelio, EDHF). En ello están implicados factores como el Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA), las Especies Reactivas de Oxígeno (ROS), así como la respuesta angiogénica del endotelio vascular a los procesos inflamatorios(27).

El máximo efector del SRAA es la Angiotensina-II, que se encarga de regular la presión sanguínea, la producción de aldosterona, la reabsorción renal de agua y de sodio, la secreción de vasopresina, así como participa en el remodelado cardiaco y vascular; también estimula la producción de prostaciclina y catecolaminas. Además del importante papel que la Angiotensina-II juega en la hipertensión arterial, induce el remodelado vascular mediante la proliferación de células musculares lisas e hipertrofia(27).

Se han identificado 47 miRNAs cuya expresión varía en hipertensión en función de los mecanismos fisiopatológicos sobre los que actúan. Para una revisión completa, consultar (27), (28), (29), (30), (31), (32), (33), (34), (35), (36), (37), (38) y (39). Los resultados de estas investigaciones se resumen en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Relación de microRNAs con hipertensión arterial.

	Alteración del SRAA	Disfunción endotelial	Inducción de factores proinflamatorios	Angiogenesis
miR-1	-	↑(27)	-	-
miR-9	-	-	-	↓(28)
miR-10a	-	-	↓(27)	-
miR-16	-	-	-	↑(27)
miR-17	-	-	↑(27)	-
miR-17-3p	-	-	↓(27)	-
miR-21	-	↑(31)	↓(27)	↑(27)
miR-24	-	↑(27)	-	↑(27)
miR-25	↓(32)	-	-	-
miR-26a	-	-	-	↑(33)
miR-27a	-	↑(27)	-	-
miR-27b	-	↑(27)	-	-
miR-29b	↑(34)	↑(34)	-	-
miR-30	-	-	-	↓(35)
miR-31	-	-	↓(27)	-
miR-92	-	-	↑(27)	-
miR-92a	-	-	↓(27)	-
miR-122	-	↑(27)	-	-
miR-125a-5p	-	-	↓(27)	-
miR-125b-5p	-	-	↓(27)	-
miR-126	-	-	↓(27)	↓(28)
miR-129-3p	↑(27)	-	-	-
miR-132	↑(27)	-	-	-
miR-133a	-	N/C(27)	-	-
miR-133b	-	N/C(27)	-	-
miR-141	-	↑(27)	-	-
miR-143	↓(36)	-	-	-
miR-145	↓(36)	↓(37)	-	-
miR-146a	-	↓(27)	↓(27)	-
miR-146b	-	↓(27)	↓(27)	-
miR-155	↓(27,29)	↑(27)	↓(27,29)	-
miR-181a-5p	↓(38)	-	-	-
miR-181b	-	-	↑(39)	-
miR-182	-	↑(27)	-	↑(27)
miR-200a	-	↑(27)	-	-
miR-200c	-	↑(27)	-	-
miR-205	-	-	↑(27)	-
miR-212	↑(27)	-	-	-
miR-217	-	↑(27)	-	↑(27)
miR-221	↓(27)	↑(27)	↓(27)	-
miR-222	↓(27)	↑(27)	↓(27)	-
miR-329	-	-	-	↑(27)
miR-483-3p	↓(27)	-	-	-
miR-505	-	-	-	↑(30)
miR-637	-	-	↓(27)	-
miR-663	↓(27)	-	↑(27)	-
miR-712	-	-	↑(27)	-

Algunos miRNAs actuarían sobre el SRAA. Jackson et al(38) aseguran que miR-181a es un regulador negativo de la renina, por lo tanto su ausencia favorece la hipertensión arterial. Por su parte, Zhang et al(34) ha demostrado que la sobreexpresión de miR-29b es capaz de inhibir el mecanismo de hipertensión dependiente de angiotensina II, inhibiendo TGF- β , mejorando, por ende, la fibrosis cardiaca hipertensiva. La inhibición del miR-25 produce una activación del SRAA, favoreciendo la aparición de hipertensión arterial(32).

Otros se han relacionado con disfunción endotelial y estrés oxidativo. La angiotensina-II, además, se encarga de activar la Nicotinamida Adenina dinucleótido Fosfatasa (NAPDH) oxidasa (NOX), principal fuente de ROS. La disfunción endotelial se caracteriza por un aumento de la biodisponibilidad de ROS, con una disminución de la capacidad antioxidante. Se ha relacionado un aumento de ROS con una disminución de la biodisponibilidad del óxido nítrico (NO), que es, a su vez, producido por la NO endotelial sintasa (eNOS)(27). El miR-145 tiene un factor protector de hipertensión arterial mediante la activación de SLCL7A, un transportador de aminoácidos regulador del metabolismo de la arginina, un sustrato de la eNOS. Por lo tanto, la activación de SLCL7A se asocia con un aumento de la producción de NO y una mejora de la función endotelial (37). Por su parte el miRNA-21, favorece la disminución de la expresión de citocromo b mitocondrial, reduciendo la producción de ROS y con ello, disminuyendo los niveles de tensión arterial. Li et al(31) han demostrado en ratas, que la inoculación de dicho miR-21 a través de un adenovirus en el ADN mitocondrial, ha conseguido reducir la tensión arterial de dichos roedores, puesto que actúa como factor protector cuando está incluido en el ADN mitocondrial y no cuando está libre. Widlansky et al(40) han demostrado que miR-29 favorece la producción de NO. Además, han observado la capacidad de miR-29 de restaurar la vasodilatación dependiente del endotelio arteriolar, mejorando la disfunción endotelial. También se ha visto que, como en el caso de miR-34a, se puede producir una disfunción endotelial por la supresión de de la proliferación y migración, así como la inducción de la apoptosis de las células de venas umbilicales (HUVECs)(41).

En la condición de disfunción endotelial también está incluida la activación inflamatoria del endotelio. Algunos factores inflamatorios como moléculas de adhesión celular (CAM), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleukina-6 (IL-6) o proteína C reactiva (PCR) tienen un importante papel como mediadores de la inflamación vascular, así como citoquinas proinflamatorias. Se ha demostrado que inhibiendo el SRAA se modulan negativamente los niveles de estas moléculas inflamatorias. También se ha visto que la activación de la inmunidad celular tiene un impacto negativo en la función vascular endotelial, mientras que un incremento de la IL-10 antiinflamatoria, como respuesta inmune adaptativa, reduce los efectos adversos asociados a hipertensión de la Angiotensina-II en el endotelio(27). Sun et al han demostrado tanto *in vitro* como *in vivo*, que la sobreexpresión de miR-181b favorece la activación de NF- κ B, que a su vez favorece la expresión de genes proinflamatorios(39).

La angiogénesis es el principal mecanismo de remodelado vascular. Es un proceso complejo regulado por un balance controlado de factores proangiogénicos y antiangiogénicos. Los factores de crecimiento vascular endotelial (VEGFs), en concreto VEGF-A, están implicados en la regulación de los procesos requeridos para la angiogénesis, como son la activación celular endotelial y la proliferación, migración y formación tubular. El principal receptor responsable de sus efectos bioquímicos es el VEGFR2 (flk-1/KDR), que conducen a la activación de protein-quinasas reguladoras de la proliferación endotelial (p42/44) y moduladores del remodelado citoesquelético de

actina, necesario para la migración (p38). La disfunción angiogénica puede contribuir a aumentar las resistencias periféricas, aumentando así la presión arterial, conduciendo a hipertensión. A grandes rasgos, el mecanismo fisiopatológico consiste en una disrupción entre el balance proangiogénico y antiangiogénico(27). Jo et al(33) concluyen que miR-26a inhibe la producción de óxido nítrico inducida por el VEGF, así como la angiogénesis inducida por VEGF. Jiang et al(35) han demostrado que miR-30a y, en general, la familia miR-30, inactivan la expresión de DLL4, un inhibidor de la angiogénesis, por lo tanto su defecto favorece la hipertensión arterial, puesto que se suprimiría la angiogénesis. En pacientes con elevadas resistencias periféricas, se podría inhibir el DLL4 con miR-30, favoreciendo la angiogénesis, el remodelado vascular y disminuyendo con ello dichas resistencias, mejorando la tensión arterial(35).

3.4. Isquemia miocárdica

El infarto de miocardio se define como la muerte de células cardíacas por isquemia prolongada, que es la manifestación más grave de enfermedad coronaria. Esta puede ser crónica o aguda. Cuando el aporte de oxígeno se reduce, la instauración de la isquemia miocárdica se inicia a los 20 minutos aproximadamente, provocando necrosis celular en unas pocas horas. La pobre regeneración impediría reparar la muerte celular causada por la isquemia, con la consecuente pérdida de contractilidad(42).

A continuación se tratarán los diferentes mecanismos que están involucrados en la isquemia miocárdica, véanse aterosclerosis, apoptosis, necroptosis y autofagocitosis.

❖ **Aterosclerosis**

La aterosclerosis consiste en una enfermedad inflamatoria crónica de la pared arterial que se inicia con una lesión endotelial y una retención subendotelial de lipoproteínas favorecida por los macrófagos. Los mecanismos que favorecen esta lesión son: la homeostasis del colesterol, la inflamación endotelial y progresión plaquetaria y el reclutamiento leucocitario(43). Es también relevante la función del músculo liso vascular, que en presencia de daño vascular, se ha visto que se desdiferencia para pasar a un estado proliferativo, migratorio e inflamatorio, ampliándose el concepto en nuevos estudios que sugieren que puede adoptar un fenotipo macrofágico, alterando su contractilidad. Esto es así por células de músculo liso inducidas por KLF4 (Factor Krüppel-like 4, un factor de pluripotencialidad, que regula la transición fenotípica de, en este caso, las células musculares lisas), favoreciendo la expresión de citocinas proinflamatorias y un incremento de la fagocitosis(44).

Se han identificado 38 miRNAs cuya expresión varía en la aterosclerosis en función de la diana fisiopatológica sobre la actúen. Para una revisión completa consultar (36), (43), (45), (46), (47), (48), (49), (50), (51), (52), (53) y (54). Los resultados de estas investigaciones se recogen en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Relación de microRNAs con aterosclerosis.

	Disbalance lipoproteico	Aterogénesis dependiente de flujo	Reclutamiento leucocitario	Proliferación de músculo liso vascular
miR-1	-	-	-	↓(45)
miR-10a	-	N/C(43)	-	-
miR-21	-	-	↓(43)	↑(43)
miR-26	↑(43)	-	↑(46)	-
miR-27a	-	-	↓(43)	-
miR-27b	↓(43)	-	-	-
miR-30-5p	-	N/C(43)	-	-
miR-30c	↑(43)	-	-	-
miR-33	↑(47)	-	↑(48)	-
miR-34b	-	-	-	↓(50)
miR-92a	-	↑(53)	-	-
miR-96	↓(43)	-	-	-
miR-106	↑(43)	-	↑(43)	-
miR-122	↑(43)	-	-	-
miR-124a	-	-	↓(43)	-
miR-125a	↓(43)	-	N/C(43)	-
miR-126	-	↓(43)	-	-
miR-128-1	↑(49)	-	↑(43)	-
miR-130b	↑(49)	-	↑(43)	-
miR-143/miR-145	-	↓(36)	-	↓(36)
miR-144	↑(43)	-	↑(43)	-
miR-146a	-	-	N/C(43)	-
miR-147	-	-	↓(43)	-
miR-148a	↑(43)	-	↑(43)	-
miR-150	-	-	↓(43)	-
miR-155	-	N/C(43)	N/C(43,51)	↓(52)
miR-185	↓(43)	-	-	-
miR-205	-	↑(43)	-	-
miR-221/miR-222	-	-	-	↑(43)
miR-223	↓(43)	-	↓(43)	-
miR-301	↑(43)	-	-	-
miR-301b	↑(49)	-	↑(43)	-
miR-302a	-	-	↑(43)	-
miR-342-5p	-	-	↑(43)	-
miR-424/322	-	-	-	↓(54)
miR-455-5p	↓(43)	-	-	-
miR-663	-	N/C(43)	-	-
miR-758	↑(43)	-	↑(43)	-

Algunos miRNAs actuarían provocando un desbalance lipoproteico. La homeostasis lipoproteica juega un papel importante en la aterosclerosis, siendo favorecido el acúmulo de colesterol y, por tanto, la aterosclerosis, con altos niveles de LDL y bajos de HDL. Los microRNAs actúan en este nivel mediante la regulación del metabolismo lipoproteico hepático, la expresión de receptor de LDL, la regulación de la biogénesis y eflujo del HDL, así como el aclaramiento hepático de colesterol y el transporte reverso del HDL(43). Se han identificado 3 miRNAs (miR-128, miR-130b, miR-301b) que interactúan con el receptor de LDL (LDLR), asociándose con un incremento

de LDL en plasma(49). La familia miR-33, por su parte, bloquean la expresión de HDL en plasma(47).

Otros mecanismos producen aterogénesis dependiente de flujo. En respuesta a estímulos bioquímicos (TNF- α , Il-6 o PCR) y biomecánicos, las células endoteliales sufren una serie de cambios celulares y moleculares que promueven aterogénesis(43). Deng et al(55) han demostrado por primera vez la influencia de miR-1185 en la progresión de aterosclerosis mediante la activación de VCAM-1 y la expresión de E-selectina. Con respecto a los estímulos biomecánicos, existen dos tipos de flujo: flujo alterado y flujo laminar. Un flujo alterado aumenta la permeabilidad endotelial (alterando la expresión y localización de proteínas de unión intracelular) y la señalización proinflamatoria (en este caso, favorecería la activación o inactivación de miRNAs como señalizadores de actividad proinflamatoria y aterogénica), promoviendo la aterogénesis. Por otro lado, un flujo laminar confiere propiedades anti-inflamatorias, puesto que no se desencadenarían los estímulos que provoca el flujo alterado. Esto hace que las lesiones ateroscleróticas se asienten preferentemente en bifurcaciones arteriales. De esta manera, un flujo alterado favorece la sobreexpresión de miRNAs como el miR-92a, o la disminución de niveles de miR-126 o miR-143/145, situaciones que favorecen la aterogénesis(43).

El mecanismo de reclutamiento leucocitario es otro sobre el que los miRNAs actúan regulando la aterogénesis. Los macrófagos fagocitan las lipoproteínas, formando células espumosas, que persisten en la pared arterial, activando una respuesta inmune maladaptativa, que promueve la formación de placas de ateroma. Los miRNAs intervienen mediando el reclutamiento de monocitos-macrófagos. Además, la aterosclerosis se asocia a una predominancia en la placa del fenotipo M1 del macrófago, mientras que el fenotipo M2 está relacionado con regresión plaquetaria, lo que también está regulado por algunos microRNAs (43). Se ha identificado a miR-155, entre otros, como regulador de la formación de células espumosas mediante su acción sobre la proteína supresora transcripcional HMG1(51). Otros, promueven la formación de células espumosas inhibiendo el eflujo de colesterol vía ABCA1, como es el caso de miR-26(46). También existen miRNAs implicados en la regulación del balance entre los fenotipos M1 y M2; es el caso de miR-33(48).

Por último, la proliferación de músculo liso vascular también se ha visto modificada por los miRNAs. La ausencia de miR-1 favorece la proliferación de células musculares vasculares, favoreciendo la aterosclerosis(45). También se ha demostrado que miR-34b, impide la proliferación de células musculares lisas vasculares, inhibiendo la expresión de CDK6(50). Por su parte, se ha identificado que miR-155 se encarga de reducir la proliferación de músculo liso vascular mediada por angiotensina-II(52). Existe un factor ateroprotector por parte de miR-143 y miR-145, puesto que favorecen el fenotipo contráctil e inhiben el fenotipo sintético de las células musculares lisas vasculares(36). Se ha identificado un papel antiproliferativo y prodiferenciador para el complejo miR-424/322. Merlet et al(54) han introducido mediante un adenovirus dicho miR en modelos de rata con estenosis vasculares, consiguiendo inhibir la proliferación de células musculares lisas vasculares, reduciendo la formación neointimal y evitando la reestenosis.

❖ Apoptosis, Necroptosis y Autofagocitosis

El infarto de miocardio involucra tres tipos de proceso de muerte celular, entre los que se incluyen apoptosis, autofagocitosis y necroptosis (42). Se han identificado 38 miRNAs cuya expresión varía en dichos procesos en función de la diana fisiopatológica sobre la que actúen. Para una revisión completa consultar (42), (56), (57), (58), (59), (60), (61) y (62), (63) y (64). Los resultados de estas investigaciones se recogen en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Relación de microRNAs con apoptosis, fagocitosis y necroptosis.

	Apoptosis	Fagocitosis	Necroptosis
miR-1	↑(57)	-	-
miR-7a/b	↓(42)	-	-
miR-15	↑(57)	-	-
miR-21	↑(58)/↓(57)	-	-
miR-22	↑(57)	-	-
miR-24	↓(57)	-	-
miR-29	↑(57)	-	-
miR-30b	-	-	↓(42)
miR-93	↓(42)	-	-
miR-99a	-	↓(59)	-
miR-101	-	↑(59)	-
miR-103/107	-	-	↑(60)
miR-122	↑(42)	-	-
miR-128	↑(56)	-	-
miR-128a	-	-	↓(64)
miR-138	↓(42)	-	-
miR-133	↓(57)	-	-
miR-140	↑(57)	-	-
miR-142-3p	↓(42)	-	-
miR-144	-	↓(59)	-
miR-145	↓(57)	↑(42)	-
miR-153	↑(42)	-	-
miR-155	-	-	↓(63)
miR-188-3p	-	↓(61)	-
miR-204	-	↓(59)	-
miR-214	↓(57)	-	-
miR-320	↑(42,57)	-	-
miR-325	-	↑(42,59)	-
miR-494	↑(57)	-	-
miR-497	-	↑(59)	-
miR-499	↓(57)	-	↓(64)
miR-506-3p	-	↑(62)	-
miR-512-3p	-	-	↓(64)
miR-613	↓(42)	-	-
miR-761	↓(57)	-	-
miR-873	-	-	↓(42)
miR-874	-	-	↑(42)
miR-2861	-	-	↑(42)

El primer mecanismo a tratar es la apoptosis, del que existen dos vías principales de señalización: la vía intrínseca y la vía extrínseca. La vía intrínseca o mitocondrial se compone de un apoptosoma, formado por procaspasa-9, un factor activador de la proteasa apoptoica 1 (Apaf-1) y el citocromo c. El citocromo c está controlado por mediadores de la familia Bcl-2, permitiendo la formación del poro en la membrana externa de la mitocondria, con su consecuente apoptosis celular. Por otro lado, la vía extrínseca se inicia por la unión de diferentes ligandos de muerte celular (FasL, TNF- α) a la superfamilia de receptores TNF (TNFR). Esta interacción se sigue del ensamblaje del complejo de señalización inductor de muerte celular (DISC), formado por un dominio Fas (FADD) y una proscapasa-8/10. De este modo se puede inducir directamente la apoptosis vía caspasas o continuando vía mitocondrial por activación de la familia Bcl-2(64). Múltiples líneas de evidencia muestran que la pérdida miocitaria durante la isquemia cardiaca, se produce mediante la vía de señalización apoptótica mitocondrial. Existe evidencia que indica que los miRNAs son importantes reguladores de la apoptosis, no solo sobre células tumorales, sino también cardiacas(57). La expresión de miR-21 inhibe la apoptosis inducida por TNF- α (58). Por su parte, miR-128 promueve la apoptosis de células miocárdicas, incrementando la expresión de c-Met(56).

Otro de los mecanismos es la autofagocitosis, del que se han encontrado tres submecanismos: macroautofagia, microautofagia y autofagia mediada por chaperonas. En este contexto nos interesa hablar de la macroautofagia, llevada a cabo en cinco pasos: inducción (mTOR y AMPK regulan ULK1, proteína inductora del complejo ULK, mediador de la inducción de la autofagia), formación del núcleo de la vesícula (vía fosforilación de Becilin-1), elongación de la vesícula (por conjugación tipo ubiquitina con múltiples proteínas ATG), fusión con el lisosoma y degradación del contenido por catepsinas(59,64). En estos procesos actúan los microRNAs regulando la autofagocitosis, incluso autorregulando su propia autofagia. Un balance adecuado de la autofagia mantiene la homeostasis cardiovascular. Por lo tanto, un exceso sobre la autofagia basal por sobreactivación de esta vía puede repercutir en daño miocárdico(59). Se ha relacionado al miR-188-3p como un factor cardioprotector por su inhibición de la autofagia mediante el bloqueo de ATG7 (mediador de la autofagocitosis)(61). Yi et al(62) han relacionado a miR-506-3p con la directa regulación de Becilin-1, bloqueando la autofagia.

Por último estaría el mecanismo de necrosis programada o necroptosis. Se ha visto recientemente que la necrosis puede ser inducida y regulada de una manera similar a la apoptosis, lo que se conoce como necroptosis. Esta puede ser inducida por la superfamilia TNFR, los receptores de células T (TCR), receptores de interferón (IFNR) y receptores Toll (TLR). El evento más crítico en la necroptosis es la formación del necrosoma vía receptor de protein kinasa 1 o 3 (RIP1 o RIP3), siendo la vía de convergencia de los estímulos de necroptosis (42,64). Liu et al(63) concluye que miR-155 disminuye la necroptosis bloqueando RIP1 en las células progenitoras de cardiomiocitos. Por el contrario, miR-103/107 provocan la necrosis del cardiomiocito mediante su unión a una proteína Fas asociada a un dominio de muerte celular (FADD)(60).

3.5. Arritmias: Fibrilación auricular

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia más común en la práctica clínica y está asociada a una alta morbilidad. La predisposición a sufrir FA surge de un proceso de remodelado atrial en el que se encuentran envueltos eventos como el remodelado eléctrico y estructural, el transporte iónico o alteración del sistema nervioso autónomo, los cuales son directa e indirectamente regulados, entre otros, por microRNAs(65). Se han identificado 28 miRNAs cuya expresión varía en los procesos mencionados en dependencia de la diana fisiopatológica sobre la que actúen. Para una revisión completa consultar (65), (66), (67), (68), (69), (70), (71), (72), (73) y (74). Los resultados de estas investigaciones se recogen en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Relación de microRNAs con fibrilación auricular.

	Remodelado eléctrico	Transporte de calcio	Remodelado estructural	Alteración SNA
miR-1	↑(66)	↑(70)	-	-
miR-21	↑(65,67)	-	↑(68,69,71)	-
miR-26a	-	-	↓(65)	-
miR26a/b	↓(68)	-	-	-
miR-29	-	-	↑(68)	-
miR-29b	-	-	↓(65)	-
miR-30	-	-	↓(68)	-
miR-30d	↑(65)	-	-	-
miR-101	↓(67,68)	-	-	-
miR-106b/miR-25	-	↓(65,72)	-	-
miR-130a	↑(73)	-	-	-
miR-133	-	-	↓(68,69)	-
miR-1/miR-133a	.	-	-	↓(74)
miR-145	↓(68)	-	-	-
miR-146b	-	-	↑(65)	-
miR-150	-	-	↓(72)	-
miR-192-5p	↑(65)	-	-	-
miR-206	-	-	-	↑(65)
miR-208a/b	↑(65)	-	↑(65)	-
miR-208b	-	↑(72)	-	-
miR-223	↑(68)	-	-	-
miR-320	↓(68)	-	-	-
miR-328	↑(65,68)	-	-	-
miR-373	↓(68)	-	-	-
miR-499	↑(65)	-	-	-
miR-517	↑(68)	-	-	-
miR-590	-	-	↓(65,68)	-
miR-664	↑(68)	-	-	-

El principal mecanismo consiste en el remodelado de los canales iónicos, afectando a los canales de calcio, de potasio y de sodio. La disregulación de los canales de calcio tipo L produce un acortamiento de la duración del potencial de acción. Un aumento en la captación de potasio por los canales rectificadores de potasio deriva en un acortamiento de la duración del potencial de acción, pudiendo desencadenar un fenómeno de reentrada. La densidad de los canales de sodio también puede verse reducida. La conducción del impulso cardiaco depende de las uniones gap de

los canales, compuestas por conexinas 40 y 43, cuya mutación genética causa FA idiopática(65). Una sobreexpresión de miR-1 produce una disregulación de la conexina 43, conduciendo a arritmias cardiacas(66). Según Osbourne et al(73), miR-130a condiciona la misma situación fisiopatológica.

Otro mecanismo sería la alteración del transporte del calcio. Una sobrecarga de calcio puede alterar el balance homeostático del calcio intracelular, lo que contribuye a la perpetuación de la FA. La falta de calcio diastólico promueve la despolarización de la membrana celular, por un aumento del intercambio sodio-calcio, facilitando fenómenos de actividad gatillo(65). Su et al(70) concluyen que la sobreexpresión de miR-1 conduce a arritmia regulando el transporte iónico de calcio.

También se objetiva un remodelado estructural cardiaco. La alteración de la homeostasis del calcio puede derivar en hipertrofia y fibrosis, produciendo remodelado cardiaco con alteración estructural y eléctrica del atrio. La fibrosis atrial puede producir fenómenos de reentrada por conducción lenta, incremento de la anisotropía o bloqueo de la conducción unidireccional(65). Una sobreexpresión de miR-21 supone un aumento de la fosforilación de STAT3 (señal transductora y activadora de la transcripción 3, que contribuye a la patogénesis de la fibrilación auricular), que supone un incremento de la fibrosis atrial, contribuyendo a la fibrilación auricular(71).

Por último, la disregulación del Sistema Nervioso Autónomo (SNA) juega un papel importante en la instauración y el mantenimiento de la FA. Existe una sobrerregulación del canal de potasio dependiente de acetilcolina, reduciendo la duración del potencial de acción. Además, un remodelado estructural de las fibras nerviosas autonómicas, puede provocar hiperinervación del atrio, produciendo un desbalance entre las fibras simpáticas y parasimpáticas(65,67). Besser et al(74) concluyen que una disregulación del cluster miRNA-1/miRNA-133a condiciona una alteración del sistema β -adrenérgico que conduce a una prolongación del QT.

3.6. Miocardiopatía diabética

La miocardiopatía diabética es una enfermedad identificada recientemente y considerada completamente diferente a la enfermedad coronaria. En el estudio Framingham se demostró que la diabetes era un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular, incluyendo la insuficiencia cardiaca. La miocardiopatía diabética consiste en la presencia de signos y síntomas de insuficiencia cardiaca sin una causa específica, salvo la presencia de diabetes(75). La progresión de esta enfermedad es multifactorial y complicada. Se incluyen los siguientes mecanismos fisiopatológicos: alteraciones metabólicas, enfermedad coronaria, alteración del sistema nervioso simpático, alteraciones nerviosas autonómicas cardiacas, alteración del sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona y defectos de la autoinmunidad, entre otros(76).

Estudios recientes han demostrado la asociación entre miRNAs y miocardiopatía diabética. Esta se produce por diferentes mecanismos, que a su vez se ven regulados por determinados miRNAs(75). Se van a tratar los referidos a alteraciones metabólicas, puesto que anteriormente se han tratado los diferentes mecanismos fisiopatológicos que producen insuficiencia cardiaca, con sus respectivas disregulaciones de los microRNAs.

Se han identificado 21 miRNAs cuya expresión varía en los siguientes mecanismos dependiendo de las dianas moleculares sobre las que actúen. Para una revisión completa consultar (75), (76), (77), (78), (79), (80), (81), (82) y (83). Los resultados de estas investigaciones se recogen en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Relación de microRNAs con miocardiopatía diabética.

	Miocardiopatía hipertrófica	Fibrosis	Apoptosis y Piroptosis	Remodelado eléctrico
miR-1	↓(76,77)	-	↑(75)	-
miR-9	-	-	↓(78)	-
miR-21	-	↑(75,79)	-	-
miR-29	-	↓(76,80)	-	-
miR-30c	↓(75,81)	-	↓(81)	-
miR-30d	-	-	↑(75,81)	-
miR-34a	-	-	↑(75,76)	-
miR-133a	↓(75,76)	↓(75,76,82)	-	-
miR-144	-	-	↓(76)	-
miR-150	↓(75,76)	-	-	-
miR-181a	↓(76,81)	-	↓(76,81)	-
miR-195	↑(76)	-	↑(75,81)	-
miR-200b	↓(76)	-	-	-
miR-206	-	-	↑(75,76)	-
miR-208a	↑(76)	-	↑(76)	-
miR-301	-	-	-	↑(83)
miR-320	-	-	↑(76)	-
miR-373	↓(75,76)	-	-	-
miR-378	↓(76)	-	↑(76)	-
miR-451	↑(75,76)	-	-	-
miR-483-3p	-	-	↑(76)	-

Un mecanismo sería la hipertrofia miocárdica. En la diabetes, la resistencia a la insulina tiende a incrementar la acumulación de ácidos grasos libres en plasma, lo que hace aumentar su oxidación y suprimir la oxidación de la glucosa a nivel cardiaco. Esta alteración de las vías de crecimiento miocárdico y de señalización insulínica, se creen relacionadas con la miocardiopatía hipertrófica y dilatada. Además, la oxidación de los ácidos grasos hace generar radicales libres de oxígeno, induciendo apoptosis(76). La resistencia a la insulina se debe a la infrarregulación de los componentes de la señalización de la insulina, mediada, en parte, por microRNAs(81). Yildirim et al(77) demostró la implicación del miR-1 con la proteína junctin, favoreciendo la contractilidad miocárdica, mientras que una disregulación de miR-1, como en condiciones de hiperglucemia, se asociaba a un defecto en la contractilidad cardiaca.

Otro mecanismo consistiría en la fibrosis miocárdica. La hiperglucemia induce miocardiopatía hipertrófica debido a la acumulación de triglicéridos y el exceso de ácidos grasos saturados. El estímulo de la hiperglucemia, además, es capaz de disregular a determinados microRNAs, consiguiendo un aumento de la fibrosis miocárdica en pacientes con miocardiopatía diabética(75,76). Según Chen et al(82) miR-133a parece inhibir el TGF-β1, por lo tanto un incremento de dicho miRNA, sería protector en cuanto a fibrosis miocárdica se refiere. Ocurre de manera similar con miR-29, que bloquea el efecto profibrótico de IL-6 en la vía de TGF-β1(80). De

forma contraria, la presencia de miR-21, estimula la fibrosis mediante la proliferación de colágeno(79).

También se ha observado un mecanismo de inducción de apoptosis y piroptosis. Altos niveles de glucosa inducen la apoptosis de los cardiomiocitos, contribuyendo a la patogénesis de la miocardiopatía diabética. La hiperglucemia también puede inducir la piroptosis del cardiomiocito, consistente en una muerte celular programada pro-inflamatoria(75). Jeyabal et al(78) sostiene que la proteína ELAV-like 1 (ELAVL-1), juega un papel importante en la progresión a insuficiencia cardíaca, promoviendo el aumento de citocinas (caspasa-1 e IL-1) en condiciones de hiperglucemia. Se ha identificado al miR-9 como inhibidor de ELAVL-1, sin embargo, en condiciones de hiperglucemia miR-9 se encuentra disminuido.

Por último, se ha visto en diabéticos la disregulación de determinados miRs involucrados en el remodelado eléctrico del miocardio(75), como ocurre con miR-301a, que altera la proteína 2 de los canales de potasio (KChIP2)(83).

4. Perspectivas de futuro

4.1. Aplicación de técnicas de alto rendimiento (-ómicas)

El rápido desarrollo de técnicas de secuenciación, ha llevado al entendimiento del transcriptoma y el epigenoma. Los avances en análisis computacionales y algoritmos informáticos, también han acelerado el descubrimiento de la identificación de los genes de los miRNA y la predicción de sus dianas. MiRBase es una base de datos de secuencias de miRNAs publicadas con al menos 35828 miRNA maduros en 223 especies(84). Además, miRBase proporciona información a otras bases de datos sobre miRNA, como son TargetScan, miRTarBase, TarBase, miRGen o miRRim. Otra base de datos es Rfam, que además de microRNAs, contiene una colección de diferentes familias de RNAs. miR2Disease se centra en miRNAs que están involucrados en patologías del sistema cardiovascular y otras enfermedades de la literatura(85). Esto ha facilitado que se llevaran a cabo estudios clínicos y experimentales para demostrar la potencial utilidad de los miRNAs circulantes como biomarcadores de diagnóstico y pronóstico o como dianas terapéuticas(84).

❖ Técnicas de detección de miRNAs

Los microRNAs pueden ser extraídos de diferentes variedades de muestras, destacándose suero y plasma, células, tejidos y tumores. Además, los microRNAs deben ser purificados, para lo que se emplean geles de electroforesis, inmunoprecipitación-AGO2 o microdissección por láser de captura(86). Por último, para determinar los perfiles de miRNA se utilizan diferentes técnicas (para las que existen diferentes kits comerciales), siendo las más usadas en estudios clínicos NGS (Next Generation Sequencing), microarrays o RT-qPCR(87), aunque otras técnicas son Northern blot, detección en fase líquida o hibridación in situ(88).

Una de las técnicas de NGS más usadas consiste en ligar miRNAs purificados a adaptadores en los extremos 3' y 5', siendo subsecuentemente convertidos en DNA complementario (DNAC). Durante un paso de amplificación posterior, se introducen secuencias

indicadoras en los cDNAs que conformarán la biblioteca cDNA, permitiendo ulteriormente el análisis paralelo de numerosas muestras en un único experimento. Estas bibliotecas de cDNAs son aplicadas a un panel de flujo, donde cDNAs simples son capturados y amplificados, generando así localizaciones clonales de cada cDNA en el panel de flujo. Este panel es posteriormente secuenciado mediante fluorescencia, permitiendo una cuantificación exacta, incluso de especies raras de miRNAs. Sin embargo, es un proceso costoso en tiempo y dinero, además aún no está estandarizado(87).

La tecnología de microarray se basa en la hibridación de ácidos nucleicos entre las moléculas que van a ser analizadas y sus correspondientes rastreadores complementarios, permitiendo la cuantificación de grandes números de miRNAs simultáneamente en un mismo experimento. La cuantificación de miRNAs normalmente consiste en un portaobjetos de cristal que contiene oligonucleótidos cortos que exclusivamente se unen a una única especie de miRNA. Estos oligonucleótidos pueden estar formados por DNA, RNA u otros ácidos nucleicos, siendo LNA (ácido nucleico *locked* o *cerrado*) el que presenta mayor afinidad a los miRNAs. Tras varios días de procesos de hibridación y lavado de la muestra eliminando miRNAs no unidos, se procede a escanear el microarray mediante fluorescencia. En contraposición a NGS, los microarrays no pueden ser usados para descubrir nuevos miRNAs, así como tampoco discriminan entre especies distintas de miRNAs(87).

Por último, la manera más directa de detectar miRNAs en el laboratorio clínico es mediante RT-qPCR. La metodología está basada en la transcripción reversa del RNA a cDNA, seguida de una reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa. A la muestra de miRNA se le trata enzimáticamente con una polimerasa A, que se unirá al extremo 3' del miRNA. El resultante RNA poliadenilado, que contiene el precursor miRNA, otros RNAs pequeños y el mRNA, respectivamente, es transcrito inversamente usando un oligo (dT) *primer* universal. El cDNA resultante es amplificado y el producto resultante de la PCR es detectado por intercalado y fluorescencia. El RT-qPCR es el test con mayor sensibilidad mostrada y el perfil de sensibilidad, especificidad, precisión y reproducibilidad más equilibrado de los aquí nombrados(87).

Nuevas tecnologías están constantemente emergiendo, siendo una de las más prometedoras la plataforma NanoString®. La tecnología está basada en un nuevo método de detección molecular digital y mediante código de barras utilizando rastreadores codificados con color. Para una mayor revisión sobre ésta técnica consultar Waggott et al(89).

❖ **Técnicas de identificación de dianas de miRNAs**

Los miRNAs interactúan con los RNA mensajeros diana de diferentes formas (**Figura 7**). Existen numerosos métodos de predicción de dianas, diferenciándose en los distintos parámetros de interacción del miRNA con el mRNA que identifica cada uno de ellos. A continuación se citarán diferentes métodos de predicción asociados al parámetro de interacción que predomina en su método de identificación(90).

Algunos métodos basados en localizar la región semilla del miRNA (localizada en el extremo 5') son PicTar, TargetScan o Miranda. Existen otros métodos más específicos, que detectan determinadas variaciones en las regiones semilla (bucles y bloques de aminoácidos que dificultan la lectura de la región semilla y que determinan la accesibilidad del miRNA a la zona

diana del mRNA), tales como DIANA-microT, FindTard, TargetRank, etc. Por otro lado, existen cinco métodos disponibles que centran sus predicciones en las consideraciones termodinámicas de los miRNAs (es decir, la formación de un doblete de miRNA estable que permita la interacción con su mRNA diana): FastH, MicroTar, PITA, RNAhybrid y StarMir. En los mRNAs diana se encuentran regiones de unión de diferentes miRNAs muy próximas que permiten la sinergia de varios miRNA para interactuar con dichos mRNAs diana; se encargan de analizarlas métodos como TargetScanS, TargetRank, PicTar o HITs-CLIP. Por último, se han identificado proteínas fijadoras de RNA (PolyA o ARE) que intervienen en esta interacción, pero ningún método de análisis ha incluido este proceso en su técnica de identificación de dianas de miRNA(90).

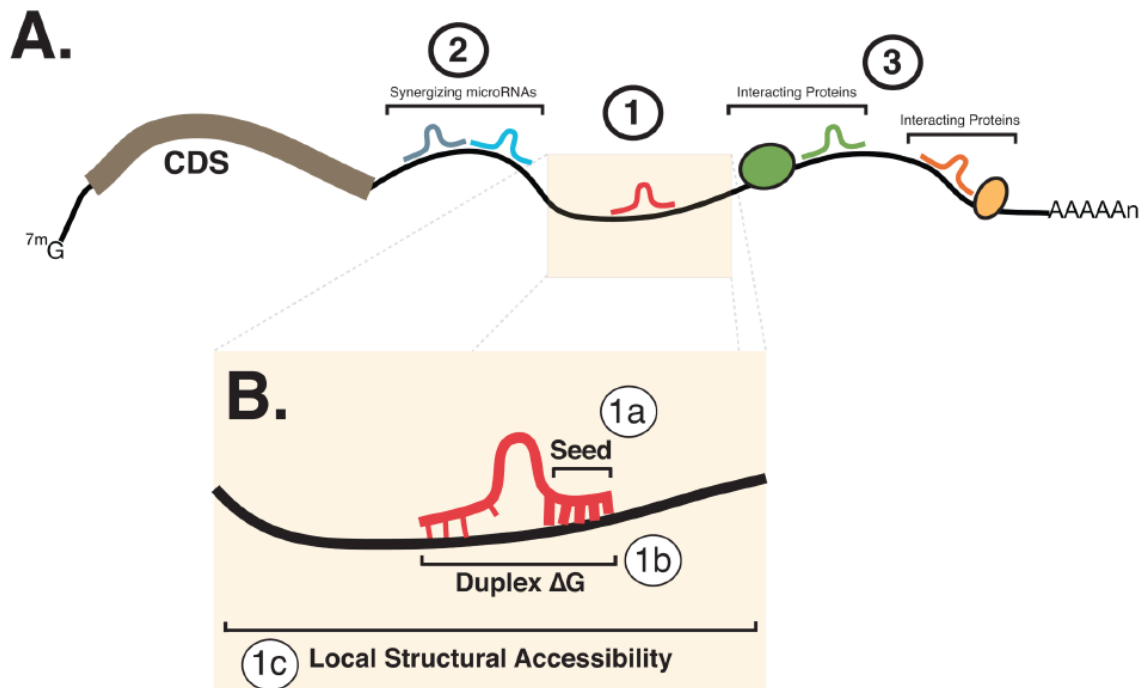


Figura 7. Parámetros de interacción de miRNA con mRNA(90).

En el **panel A** se observa un dibujo de microRNAs y proteínas fijadoras de RNA interactuando con un mRNA diana. Se pueden observar los diferentes parámetros de interacción de los miRNA con los mRNA, a saber: lugares de unión del miRNA (1), la presencia de miRNAs colaboradores (2) y la presencia de proteínas de interacción (3). En el **panel B** se detallan los lugares de unión del miRNA, incluyéndose: la región semilla (1a), la termoestabilidad del doblete (1b) y la accesibilidad estructural de las regiones que rodean los lugares de unión del miRNA (1c).

4.2. miRNA en la regeneración miocárdica

La baja capacidad regenerativa de los cardiomiocitos es el principal problema de la reparación cardíaca. Se han desarrollado diferentes estrategias con la intención de obtener nuevos cardiomiocitos: inducción de células madre pluripotenciales (iPSCs) y su diferenciación a cardiomiocitos, activación de células madre cardíacas preexistentes, estimulación de cardiomiocitos para su reentrada en el ciclo celular o reprogramación de fibroblastos hacia cardiomiocitos. Es novedoso el descubrimiento de determinados factores de transcripción (Oct4, Sox2, Klf4 y c-myc), capaces de reprogramar células terminales diferenciadas hacia iPSCs(91). Se ha visto que el traspaso de iPSC tras un infarto de miocardio, ha favorecido la restauración de la contractilidad, el

tejido cardíaco y el grosor de la pared ventricular. Hodgkinson et al (92) utilizaron un combo de 7 miRs sobre fibroblastos *in vitro* (miR-1, miR-126, miR-133a, miR-138, miR-206, miR-208a y miR-499) observando en una semana la expresión de troponinas cardíacas y en 4 semanas sarcómeras organizadas, contracción y oscilaciones de calcio espontáneas. También demostraron *in vivo* que es más eficiente, pero más progresivo y más lento.

❖ **Regeneración celular cardíaca**

El corazón tiene una capacidad limitada de regeneración celular. Los miRNAs se encargan también de regular estos procesos, como pueden ser: la activación de la diferenciación de células madre cardíacas (CSCs), la reprogramación de fibroblastos o la proliferación cardiomiocitaria(42).

Se han identificado 31 miRNAs cuya expresión varía en estos mecanismos en función de la diana fisiopatológica sobre la actúen. Para una revisión completa consultar (45), (91), (92) y (93). Los resultados de estas investigaciones se recogen en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Relación de microRNAs con la regeneración cardíaca.

	Proliferación cardiomiocitos	Diferenciación células madre	Reprogramación celular
miR-1	↓(45,91)	↑(93)	↑(91,93)
miR-15	↓(92)	-	-
miR-17	↑(92,93)	↑(93)	-
miR-21	-	↓(92)	-
miR-25	-	↑(92)	-
miR-29	N/C(93)	-	-
miR-29a	-	↓(92)	-
miR-34a	-	↓(92)	-
miR-92	↑(92,93)	↑(93)	-
miR-99	↓(93)	-	-
miR-106b	-	↑(92)	-
miR-133	↓(93)	↓(93)	↑(91,93)
miR-138	-	↑(92)	-
miR-195	-	-	-
miR-199a	↑(92,93)	↓(92)	-
miR-204	↑(92)	-	-
miR-208	-	-	↑(91,93)
miR-222	↑(92)	-	-
miR-291	-	↑(92)	↑(93)
miR-294	-	↑(92)	↑(93)
miR-295	-	↑(92)	↑(93)
miR-302	↑(92)	-	↑(93)
miR-302b	N/C(92)	-	↑(92)
miR-302d	-	↑(92)	-
miR-363	-	-	↑(92)
miR-367	↑(92)	↑(92)	↑(93)
miR-372	-	-	↑(92)
miR-499	-	↑(93)	↑(91)
miR-518	N/C(92)	-	-
miR-590	↑(93)	-	-
miR-1825	N/C(92)	-	-

El primer mecanismo a tratar es la proliferación cardiomiocitaria. El corazón de los mamíferos crece principalmente por proliferación de los cardiomiocitos durante la embriogénesis y el desarrollo fetal. Tras el nacimiento, gran parte de esos cardiomiocitos, que eran mononucleados, pasan a ser binucleados y, por tanto, se piensa que incapaces de dividirse. Por lo tanto, se asume que el crecimiento cardíaco postnatal es por hipertrofia de estos cardiomiocitos y no por proliferación celular. Sin embargo, se ha visto que existe una pequeña renovación cardiomiocitaria (aproximadamente de un 1% anual en mamíferos) procedente de cardiomiocitos preexistentes. Se conoce además, que la síntesis de DNA cardiomiocitario disminuye con la edad y que el daño miocárdico estimula la división de cardiomiocitos preexistentes, siendo esta respuesta más importante de la homeostasis cardíaca que la que ofrece la diferenciación de progenitores celulares(93).

Otro mecanismo es la diferenciación de cardiomiocitos a células madre. Los miRNAs se encuentran involucrados en varios aspectos del control del ciclo celular de los cardiomiocitos, incluyendo la maduración postnatal y la diferenciación terminal, así como su proliferación. Algunos miRNAs promueven la diferenciación de células madre a cardiomiocitos, potenciando la restauración de la masa y de la función miocárdica en el corazón infartado. Además, algunos estudios han mostrado que son capaces de convertir células ya diferenciadas en cardiomiocitos, es lo que se conoce como reprogramación celular(93). Se ha demostrado que la sobreexpresión de miRNA-1 inactiva IGF1, factor pleiotrópico de varios tipos celulares, por lo tanto, la ausencia de miRNA-1 favorece la proliferación de cardiomiocitos(45). Varios microRNAs se han visto involucrados en la proliferación de células madre cardíacas. Estas células madre deben tener un fenotipo caracterizado por una rápida proliferación, una fase S reducida y una baja expresión de inhibidores del ciclo celular (p21-p53). Además deben presentar determinados marcadores cardíacos (Oct4, Sox2, Klf4 y cMyc, entre otros) que favorecen su diferenciación a miocardiocitos, pudiendo ser dianas efectoras de determinados miRNAs(92).

Por último, se va a tratar el mecanismo de reprogramación celular. Algunos microRNAs son capaces de inducir la expresión de dichos marcadores cardíacos en fibroblastos y además, son eficientes en la conversión de esos fibroblastos en células con propiedades funcionales características de los cardiomiocitos (canales tipo L, oscilaciones espontáneas del calcio y contractilidad)(93). Nam et al(94) declaró que la combinación de determinados factores de crecimiento (HAND2, TBX5, MYOCD) con miR-1 y miR-133 activó la expresión de marcadores cardíacos, pero la mayoría de cardiomiocitos estaban en un estado parcial de reprogramación.

5. Conclusiones

Viendo los miRNAs más repetidos entre las diferentes patologías mencionadas en esta revisión, se puede llegar a la conclusión de que los miRNAs más sensibles de insuficiencia cardiaca son los recogidos en la **Tabla 8**, incluyéndose aquellos que aparecían en tres o más causas de insuficiencia cardiaca.

Tabla 8. miRNAs más sensibles de insuficiencia cardiaca

	Hipertrofia miocárdica	Hipertensión arterial	Isquemia miocárdica	Fibrilación Auricular	Miocardiopatía diabética
miR-1	↓	↑	↑/↓	↑	↑/↓
miR-9	↓	↓	-	-	↓
miR-21	↑	↑/↓	↑/↓	↑	↑
miR-26	↓	↑	↑	↓	-
miR-29	-	↑	↑	↑/↓	↓
miR-30	-	↓	↑/↓	↑/↓	↑/↓
miR-101	↓	-	↑	↓	-
miR-133	↓	N/C	↓	↓	↓
miR-145	↓	↓	↑/↓	↓	-
miR-150	↓	-	↓	↓	↓
miR-155	↑	↑/↓	↓	-	-
miR-221	↑	↑/↓	↑	-	-
miR-320	-	-	↑	↓	↑

Por otro lado, los miRNAs más específicos de cada una de las patologías causantes de insuficiencia cardiaca mencionadas en esta revisión son los recogidos en la **Tabla 9**, incluyendo aquellos que aparecían exclusivamente en una sola de las causas aquí recogidas de insuficiencia cardiaca.

Tabla 9. miRNAs más específicos de insuficiencia cardiaca

Hipertrofia miocárdica		Hipertensión arterial		Isquemia miocárdica		Fibrilación Auricular		Miocardiopatía diabética	
miR-19a/b	↑	miR-16	↑	miR-7a/b	↓	miR-192-5p	↑	miR-195	↑
miR-23a	↑	miR-17	↑	miR-15	↑	miR-517	↑	miR-451	↑
miR-98	↓	miR-25	↓	miR-33	↑	miR-590	↓		
miR-199a/b	↑	miR-31	↓	miR-93	↓	miR-664	↑		
miR-350	↑	miR-129-3p	↑	miR-96	↓				
		miR-132	↑	miR-99a	↓				
		miR-141	↑	miR-103/107	↑				
		miR-143	↓	miR-124a	↓				
		miR-182	↑	miR-128	↑/↓				
		miR-217	↑	miR-130b	↑				
		miR-329	↑	miR-138	↓				
		miR-505	↑	miR-140	↑				
		miR-637	↓	miR-142-3p	↓				
		miR-712	↑	miR-147	↓				
				miR-148a	↑				
				miR-153	↑				
				miR-188-3p	↓				
				miR-204	↓				
				miR-214	↓				
				miR-302a	↑				
				miR-325	↑				
				miR-342-5p	↑				
				miR-424/322	↓				
				miR-455-5p	↓				
				miR-494	↑				
				miR-497	↑				
				miR-506-3p	↑				
				miR-512-3p	↓				
				miR-613	↓				
				miR-758	↑				
				miR-761	↓				
				miR-873	↓				
				miR-874	↑				
				miR-2861	↑				

6. Bibliografía

1. Beermann J, Piccoli M-T, Viereck J, Thum T. Non-coding RNAs in Development and Disease: Background, Mechanisms, and Therapeutic Approaches. *Physiol Rev.* 2016;96(4):1297–325.
2. Fabbri M. Non-coding RNAs and cancer. *Non-Coding RNAs Cancer.* 2014;1–284.
3. Pushparaj PN, Aarthi JJ, Manikandan J, Kumar SD. siRNA, miRNA, and shRNA: In vivo applications. *J Dent Res.* 2008;87(11):992–1003.
4. Bofill-De Ros X, Gu S. Guidelines for the optimal design of miRNA-based shRNAs. *Methods.* 2016;103:157–66.
5. Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014;15(8):509–24.
6. Scott M H. An overview of microRNAs. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015;87:3–14.
7. Bartel DP. MicroRNAs: Target Recognition and Regulatory Functions. *Cell.* 2009;136(2):215–33.
8. Desvignes, T., Batzel, P., Berezikov, E., Eilbeck, K., Eppig, J.T., McAndrews, M.S., Singer, A., Postlethwait JH. microRNA nomenclature: A view incorporating genetic origins, biosynthetic pathways, and sequence variants. *Trends Genet.* 2015;31(11):613–26.
9. Wojciechowska A, Osiak A, Kozar-Kamińska K. MicroRNA in cardiovascular biology and disease. *Adv Clin Exp Med.* 2017;26(5):868–74.
10. Ambros V, Bartel B, Bartel DP, Burge CB, Carrington JC, Chen X, et al. A uniform system for microRNA annotation. *RNA Soc.* 2003;9(1):277–9.
11. Oszolak F, Poling L, Wang Z, Liu H, XS. Chromatin structure analyses identify miRNA promoters. *Genes Dev.* 2008;23:3172–83.
12. Romaine SPR, Tomaszewski M, Condorelli G, Samani NJ. MicroRNAs in cardiovascular disease : an introduction for clinicians. 2015;921–8.
13. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Drazner MH, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: A report of the American college of cardiology foundation/american heart association task force on practice guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(16):e147–239.
14. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, et al. Guía ESC 2016 Insuficiencia cardiaca aguda y crónica. *Rev Española Cardiol.* 2016;69(12):1167.e1-1167.e85.
15. Shimizu I, Minamino T. Physiological and pathological cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol.* 2016;97:245–62.
16. Kemp CD, Conte J V. The pathophysiology of heart failure. *Cardiovasc Pathol.* 2012;21(5):365–71.
17. Sadiq S, Crowley TM, Charchar FJ, Sanigorski A, Lewandowski PA. MicroRNAs in a hypertrophic heart: from foetal life to adulthood. *Biol Rev.* 2017;92(3):1314–31.
18. Dharmarajan K, Rich MW. Epidemiology, Pathophysiology, and Prognosis of Heart Failure in Older Adults. *Heart Fail Clin.* 2017;13(3):417–26.
19. Wang J, Liew OW, Richards AM, Chen YT. Overview of microRNAs in cardiac hypertrophy, fibrosis, and apoptosis. *Int J Mol Sci.* 2016;17(5):1–21.
20. Hua Y, Zhang Y, Ren J. IGF-1 deficiency resists cardiac hypertrophy and myocardial contractile dysfunction: Role of microRNA-1 and microRNA-133a. *J Cell Mol Med.* 2012;16(1):83–95.

21. Song DW, Ryu JY, Kim JO, Kwon EJ, Kim DH. The *miR-19a/b* family positively regulates cardiomyocyte hypertrophy by targeting atrogin-1 and MuRF-1. *Biochem J*. 2014;457(1):151–62.
22. Dey N, Ghosh-Choudhury N, Kasinath BS, Choudhury GG. TGF β -stimulated microRNA-21 utilizes PTEN to orchestrate AKT/mTORC1 signaling for mesangial cell hypertrophy and matrix expansion. *PLoS One*. 2012;7(8).
23. Da Costa Martins PA, Salic K, Gladka MM, Armand AS, Leptidis S, El Azzouzi H, et al. MicroRNA-199b targets the nuclear kinase Dyrk1a in an auto-amplification loop promoting calcineurin/NFAT signalling. *Nat Cell Biol*. 2010;12(12):1220–7.
24. Kim JO, Song DW, Kwon EJ, Hong SE, Song HK, Min CK, et al. MiR-185 plays an anti-hypertrophic role in the heart via multiple targets in the calcium-signaling pathways. *PLoS One*. 2015;10(3):1–17.
25. Ruotian Li, Guijun Yan¹, Qun Zhang, Yue Jiang, Haixiang Sun, Yali Hu JS, And, Xu B. miR-145 inhibits isoproterenol-induced cardiomyocyte hypertrophy by targeting the expression and localization of GATA6. *FEBS Lett*. 2013;
26. Han M, Yang Z, Sayed D, He M, Gao S, Lin L, et al. GATA4 expression is primarily regulated via a miR-26b-dependent post-transcriptional mechanism during cardiac hypertrophy. *Cardiovasc Res*. 2012;93(4):645–54.
27. Nemezc M, Alexandru N, Tanko G, Georgescu A. Role of MicroRNA in Endothelial Dysfunction and Hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2016;18(12).
28. Kontaraki JE, Marketou ME, Zacharis EA, Parthenakis FI, Vardas PE. MicroRNA-9 and microRNA-126 expression levels in patients with essential hypertension: Potential markers of target-organ damage. *J Am Soc Hypertens*. 2014;8(6):368–75.
29. DuPont JJ, McCurley A, Davel AP, McCarthy J, Bender SB, Hong K, et al. Vascular mineralocorticoid receptor regulates microRNA-155 to promote vasoconstriction and rising blood pressure with aging. *JCI Insight*. 2016;1(14).
30. Yang Q, Jia C, Wang P, Xiong M, Cui J, Li L, et al. MicroRNA-505 identified from patients with essential hypertension impairs endothelial cell migration and tube formation. *Int J Cardiol*. 2014;177(3):925–34.
31. Li H, Zhang X, Wang F, Zhou L, Yin Z, Fan J, et al. MicroRNA-21 Lowers Blood Pressure in Spontaneous Hypertensive Rats by Upregulating Mitochondrial Translation. *Circulation*. 2016;134(10):734–51.
32. Li H, Xie Y, Liu Y, Qi Y, Tang C, Li X, et al. Alteration in microRNA-25 expression regulate cardiac function via renin secretion. *Exp Cell Res*. 2018;365(1):119–28.
33. Jo H, Kang H, Lee A, Choi J, Chang W, Lee M, et al. Endothelial miR-26a regulates VEGF-Nogo-B receptor-mediated angiogenesis. 2017;50(7):384–9.
34. Zhang Y, Huang XR, Wei LH, Chung AC, Yu CM, Lan HY. MiR-29b as a therapeutic agent for angiotensin ii-induced cardiac fibrosis by targeting TGF- β /Smad3 signaling. *Mol Ther*. 2014;22(5):974–85.
35. Jiang Q, Lagos-Quintana M, Liu D, Shi Y, Helker C, Herzog W, et al. MiR-30a regulates endothelial tip cell formation and arteriolar branching. *Hypertension*. 2013;62(3):592–8.
36. Zhao W, Zhao SP, Zhao YH. MicroRNA-143/145 in cardiovascular diseases. *Biomed Res Int*. 2015;2015.
37. Wang Y, Jin L. miRNA-145 is associated with spontaneous hypertension by targeting SLC7A1. *Exp Ther Med*. 2018;15(1):548–52.

38. Jackson KL, Marques FZ, Watson AMD, Palma-Rigo K, Nguyen-Huu TP, Morris BJ, et al. A novel interaction between sympathetic overactivity and aberrant regulation of renin by miR-181a in BPH/2J genetically hypertensive mice. *Hypertension*. 2013;62(4):775–81.
39. Sun X, Icli B, Wara AK, Belkin N, He S, Kobzik L, et al. MicroRNA-181b regulates NF- κ B-mediated vascular inflammation. *J Clin Invest*. 2012;122(6):1973–90.
40. Widlansky ME, Jensen DM, Wang J, Liu Y, Geurts AM, Kriegel AJ, et al. miR-29 contributes to normal endothelial function and can restore it in cardiometabolic disorders. *EMBO Mol Med*. 2018;1:e8046.
41. Liu S, Yi F, Cheng W, Qu X, Wang C. Molecular mechanisms in vascular injury induced by hypertension: Expression and role of microRNA-34a. *Exp Ther Med*. 2017;14(6):5497–502.
42. Sun T, Dong Y-H, Du W, Shi C-Y, Wang K, Tariq M-A, et al. The Role of MicroRNAs in Myocardial Infarction: From Molecular Mechanism to Clinical Application. *Int J Mol Sci*. 2017;18(4):745.
43. Feinberg MW, Moore KJ. MicroRNA Regulation of Atherosclerosis. *Circ Res*. 2016;118(4):703–20.
44. Shankman L, Delphine Gomez, Olga A. Cherepanova, Morgan Salmon G, F. Alencar, Ryan M. Haskins, Pamela Swiatlowska, Alexandra A. C. Newman, Elizabeth S. Greene, Adam C. Straub, Brant Isakson, Gwendalyn J. Randolph A, Gary K. Owens. KLF4 Dependent Phenotypic Modulation of SMCs Plays a Key Role in Atherosclerotic Plaque Pathogenesis. *Nat Med*. 2015;21(6):628–37.
45. Liu K, Ying Z, Qi X, Shi Y, Tang Q. MicroRNA-1 regulates the proliferation of vascular smooth muscle cells by targeting insulin-like growth factor 1. *Int J Mol Med*. 2015;36(3):817–24.
46. Sun D, Zhang J, Xie J, Wei W, Chen M, Zhao X. MiR-26 controls LXR-dependent cholesterol efflux by targeting ABCA1 and ARL7. *FEBS Lett*. 2012;586(10):1472–9.
47. Rottiers V, Obad S PA. Pharmacological inhibition of a microRNA family in nonhuman primates by a seed-targeting 8-mer antimiR. *Sci Transl Med*. 2013;
48. Ouimet M, Loke P, Moore KJ, Ouimet M, Ediriweera HN, Gundra UM, et al. MicroRNA-33 – dependent regulation of macrophage metabolism directs immune cell polarization in atherosclerosis Find the latest version : MicroRNA-33 – dependent regulation of macrophage metabolism directs immune cell polarization in atherosclerosis. 2015;125(12):4334–48.
49. Wagschal A, Najafi-Shoushtari SH WL. Genome-Wide identification of microRNAs regulating cholesterol and triglyceride homeostasis. *Nat Med*. 2015;21(11):1280–9.
50. Yang F, Li H, Du Y, Shi Q, Zhao L. Downregulation of microRNA-34b is responsible for the elevation of blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Mol Med Rep*. 2017;15(3):1031–6.
51. Tian FJ, An LN, Wang GK, Zhu JQ, Li Q, Zhang YY, et al. Elevated microRNA-155 promotes foam cell formation by targeting HBP1 in atherogenesis. *Cardiovasc Res*. 2014;103(1):100–10.
52. Yang L-X, Liu G, Zhu G-F, Liu H, Guo R-W, Qi F, et al. MicroRNA-155 inhibits angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell proliferation. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2014;15(2):109–16.
53. Huang Y, Tang S, Ji-Yan C, Huang C, Li J, Cai AP, et al. Circulating MIR-92a expression level in patients with essential hypertension: A potential marker of atherosclerosis. *J Hum Hypertens*. 2017;31(3):200–5.
54. Merlet E, Atassi F, Motiani RK, Mougnot N, Jacquet A, Nadaud S, et al. MiR-424/322 regulates vascular smooth muscle cell phenotype and neointimal formation in the rat. *Cardiovasc Res*. 2013;98(3):458–68.

55. Deng H, Song Z, Xu H, Deng X, Zhang Q, Chen H, et al. MicroRNA-1185 promotes arterial stiffness through modulating VCAM-1 and E-selectin expression. *Cell Physiol Biochem*. 2017;41(6):2183–93.
56. Yin J, Liu H, Huan L, Song S, Han L, Ren F, et al. Role of miR-128 in hypertension-induced myocardial injury. *Exp Ther Med*. 2017;14(4):2751–6.
57. Makhdoui P, Roohbakhsh A, Karimi G. MicroRNAs regulate mitochondrial apoptotic pathway in myocardial ischemia-reperfusion-injury. *Biomed Pharmacother*. 2016;84:1635–44.
58. Wang Z-H, Sun X-Y, Li C-L, Sun Y-M, Li J, Wang L-F, et al. miRNA-21 Expression in the Serum of Elderly Patients with Acute Myocardial Infarction. *Med Sci Monit*. 2017;23:5728–34.
59. Sermersheim MA, Park KH, Gumpfer K, Adesanya TMA, Song K, Tan T, et al. MicroRNA regulation of autophagy in cardiovascular disease. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2017;22(22):48–65.
60. Wang JX, Zhang XJ, Li Q, Wang K, Wang Y, Jiao JQ, et al. MicroRNA-103/107 regulate programmed necrosis and myocardial ischemia/reperfusion injury through targeting FADD. *Circ Res*. 2015;117(4):352–63.
61. Wang K, Liu CY, Zhou LY, Wang JX, Wang M, Zhao B, et al. APF lncRNA regulates autophagy and myocardial infarction by targeting miR-188-3p. *Nat Commun*. 2015;6:1–11.
62. Yi F, Hao Y, Chong X, Zhong W. Overexpression of microRNA-506-3p aggravates the injury of vascular endothelial cells in patients with hypertension by downregulating beclin1 expression. *Exp Ther Med*. 2018;15(3):2844–50.
63. Liu J, van Mil A, Vrijssen K, Zhao J, Gao L, Metz CHG, et al. MicroRNA-155 prevents necrotic cell death in human cardiomyocyte progenitor cells via targeting RIP1. *J Cell Mol Med*. 2011;15(7):1474–82.
64. Su Z, Yang Z, Xu Y, Chen Y, Yu Q. MicroRNAs in apoptosis, autophagy and necroptosis. *Oncotarget*. 2015;6(11):8474–90.
65. van den Berg NWE, Kawasaki M, Berger WR, Neefs J, Meulendijks E, Tijssen AJ, et al. MicroRNAs in Atrial Fibrillation: from Expression Signatures to Functional Implications. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2017;31(3):345–65.
66. Liao C, Gui Y, Guo Y, Xu D. The regulatory function of microRNA-1 in arrhythmias. *Mol Biosyst*. 2016;12(2):328–33.
67. Poudel P, Xu Y, Cui Z, Sharma D, Tian B, Paudel S. Atrial fibrillation: Recent advances in understanding the role of MicroRNAs in atrial remodeling with an electrophysiological overview. *Cardiol*. 2015;131(1):58–67.
68. Gomes Da Silva AM, Silbiger VN. MiRNAs as biomarkers of atrial fibrillation. *Biomarkers*. 2014;19(8):631–6.
69. Nattel S, Harada M. Atrial remodeling and atrial fibrillation: Recent advances and translational perspectives. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(22):2335–45.
70. Su X, Liang H, Wang H, Chen G, Jiang H, Wu Q, et al. Over-expression of microRNA-1 causes arrhythmia by disturbing intracellular trafficking system. *Sci Rep*. 2017;7(December 2016):1–12.
71. Huang Z, Chen XJ, Qian C, Dong Q, Ding D, Wu QF, et al. Signal transducer and activator of transcription 3/MicroRNA-21 feedback loop contributes to atrial fibrillation by promoting atrial fibrosis in a rat sterile pericarditis model. *Circ Arrhythmia Electrophysiol*. 2016;9(7).
72. Tao H, Shi KH, Yang JJ, Li J. Epigenetic mechanisms in atrial fibrillation: New insights and future directions. Vol. 26, *Trends in Cardiovascular Medicine*. Elsevier; 2016; 306-318.

73. Osbourne A, Calway T, Broman M, McSharry S, Earley J KG. Downregulation of Connexin43 by MicroRNA-130a in Cardiomyocytes Results in Cardiac Arrhythmias. *J Mol Cell Cardiol.* 2015.
74. Besser J, Malan D, Wystub K, Bachmann A, Wietelmann A, Sasse P, et al. MiRNA-1/133a clusters regulate adrenergic control of cardiac repolarization. *PLoS One.* 2014;9(11).
75. Liu X, Liu S. Role of microRNAs in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy. *Biomed Reports.* 2017;6(2):140–5.
76. Guo R, Nair S. Role of microRNA in diabetic cardiomyopathy: From mechanism to intervention. Vol. 1863, *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease.* Elsevier B.V.; 2017. 2070–2077 p.
77. Yildirim SS, Akman D, Catalucci D, Turan B. Relationship Between Downregulation of miRNAs and Increase of Oxidative Stress in the Development of Diabetic Cardiac Dysfunction: Junctin as a Target Protein of miR-1. *Cell Biochem Biophys.* 2013;67(3):1397–408.
78. Jeyabal P, Thandavarayan RA, Joladarashi D, Suresh Babu S, Krishnamurthy S, Bhimaraj A, et al. MicroRNA-9 inhibits hyperglycemia-induced pyroptosis in human ventricular cardiomyocytes by targeting ELAVL1. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016;471(4):423–9.
79. Liu S, Li W, Xu M, Huang H, Wang J, Chen X. Micro-RNA 21 Targets Dual Specific Phosphatase 8 to Promote Collagen Synthesis in High Glucose-Treated Primary Cardiac Fibroblasts. *Can J Cardiol.* 2014;30(12):1689–99.
80. Zhang Y, Wang JH, Zhang YY, Wang YZ, Zhao Y, Jin XX, et al. Deletion of interleukin-6 alleviated interstitial fibrosis in streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy of mice through affecting TGF β 1 and miR-29 pathways. *Sci Rep.* 2016;6(February):1–11.
81. Hathaway QA, Pinti M V, Durr AJ, Waris S, Shepherd DL, Hollander JM. Regulating MicroRNA Expression: At the Heart of Diabetes Mellitus and the Mitochondrion. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol.* 2017;(304):ajpheart.00520.2017.
82. Chen S, Puthanveetil P, Feng B, Matkovich SJ, Dorn GW, Chakrabarti S. Cardiac miR-133a overexpression prevents early cardiac fibrosis in diabetes. *J Cell Mol Med.* 2014;18(3):415–21.
83. Panguluri SK, Tur J, Chapalamadugu KC, Katnik C, Cuevas J, Tipparaju SM. MicroRNA-301a Mediated Regulation of Kv4 . 2 in Diabetes : Identification of Key Modulators. *PLoS One.* 2013;8(4).
84. Fan B, Luk AOY, Chan JCN, Ma RCW. MicroRNA and Diabetic Complications: A Clinical Perspective. *Antioxid Redox Signal.* 2017;ars.2017.7318.
85. Kunz M, Xiao K, Liang C, Viereck J, Pachel C, Frantz S, et al. Bioinformatics of cardiovascular miRNA biology. *J Mol Cell Cardiol.* 2015;89:3–10.
86. Pritchard CC, Cheng HH, Tewari M, Division B, Hutchinson F, Health P, et al. MicroRNA profiling: approaches and considerations. 2015;13(5):358–69.
87. Kappel A, Keller A. MiRNA assays in the clinical laboratory: Workflow, detection technologies and automation aspects. *Clin Chem Lab Med.* 2017;55(5):636–47.
88. De Planell-Saguer M, Rodicio MC. Analytical aspects of microRNA in diagnostics: A review. *Anal Chim Acta.* 2011;699(2):134–52.
89. Waggott D, Chu K, Yin S, Wouters BG, Liu FF, Boutros PC. NanoStringNorm: An extensible R package for the pre-processing of nanostring mRNA and miRNA data. *Bioinformatics.* 2012;28(11):1546–8.
90. Hammell M. Computational methods to identify miRNA targets. 2011;21(7):738–44.

91. Chen Y, Yang Z, Zhao ZA, Shen Z. Direct reprogramming of fibroblasts into cardiomyocytes. *Stem Cell Res Ther.* 2017;8(1):1–8.
92. Hodgkinson CP, Kang MH, Dal-Pra S, Mirotsov M, Dzau VJ. MicroRNAs and cardiac regeneration. *Circ Res.* 2015;116(10):1700–11.
93. Katz MG, Fargnoli AS, Kendle AP, Hajjar RJ, Bridges CR. The role of microRNAs in cardiac development and regenerative capacity. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol.* 2016;310(5):H528–41.
94. Nam Y-J, Song K, Luo X, Daniel E, Lambeth K, West K, et al. Reprogramming of human fibroblasts toward a cardiac fate. *Proc Natl Acad Sci.* 2013;110(14):5588–93.

