FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

Papel de los microARNs en la disfunción endotelial

Role of microARNs in endothelial dysfunction

Autor: D. Pedro Velasco Fernández

Director/es: D. Carlos Manuel Martínez Campa

Santander, Junio 2019

Índice

A. ABREVIATURAS 1

B. RESUMEN 2

C. ABSTRACT 2

D. INTRODUCCIÓN A LA FUNCIÓN ENDOTELIAL 3

D.1. Funciones del endotelio: 3

D.2. La disfunción endotelial: 4

D.2.1. Factores predisponentes 5

E. INTRODUCCION A LOS MICRO ARNs 11

E.1. Definición 11

E.2. Historia de los miARN 12

E.3. Biogenia: 13

E.4. Función de los miARNs: 14

E.5. Modo de actuación: 15

E.6. Nomenclatura: 16

E.7. Papel de los miARNs en la enfermedad 17

E.7.1. Cáncer 17

E.7.2. Enfermedades cardiovasculares 18

E.7.3. Enfermedades inflamatorias 18

E.7.4. Enfermedades del desarrollo neuronal 19

E.7.5. Enfermedades Autoinmunes 19

E.7.6. Enfermedades hepáticas 19

E.8. Perspectiva 20

F. PAPEL DE LOS microARNs EN LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL 21

F.1. MiARNs en la DE asociada a hipertensión vascular 22

F.2. MiARNs y sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (RAAS) 24

F.3. MiARNs como moduladores de la síntesis y liberación de NO 26

F.4. MiARNs como controladores del estrés oxidativo 27

F.5. MiARNs en la inflamación vascular 29

F.6. MiARNs en la angiogénesis vascular 31

F.7. Los MiARNs como mediador en la comunicación intercelular 34

G. CONCLUSIONES 38

H. BIBLIOGRAFÍA 39

A. ABREVIATURAS

AII: angiotensina II

AGE: productos finales de glicosilación avanzada

ARA-II: antagonistas del receptor de la angiotensina II

FGF: factor de crecimiento derivado de los fibroblastos

CAM: moléculas de adhesión

CML: células musculares lisas

CTGF: factor de crecimiento del tejido conectivo

DE: disfunción endotelial

EAC: Enfermedad coronaria humana

ECV: Enfermedades Cardiovasculares

EDHF: factor hiperpolarizante derivado del endotelio

EDRF: factor relajador derivado del endotelio

EPO: eritropoyetina

ET-1: endotelina-1

ET-A, ET-B: endotelina-A, endotelina-B

(GCLC): Glutamato-cisteína ligasa

HSV-1: Herpes Virus 1

HTA: Hipertensión arterial

ICAM: moléculas de adhesión intracelulares

IECA: inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina

IL-1: interleuquina-1

L-Arg: L-arginina

LDL: lipoproteínas de baja densidad

LOX: lisil-oxidasa-endotelial

MCP-1: factores quimiotácticos

MiARNs: microARNs

NO: óxido nítrico

NOS: óxido nítrico sintasa

NOSe: óxido nítrico sintasa endotelial

NOSi: óxido nítrico sintasa inducible

NOSn: óxido nítrico sintasa neuronal

O_2^-: anión superóxido

PAF: factor activador plaquetario

PCR: proteína C reactiva

PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas

PGs: proteoglicanos

PGA: productos de glicación avanzada

PGH2: Prostaglandina H2

PGI_2 : Prostaciclina 2

ROS: especies reactivas de oxígeno

SOD: superóxido dismutasa

TFPi: inhibidor del factor tisular

TNF-alfa: factor de necrosis tumoral alfa

tPA: activador tisular del plasminógeno

TXA2: Tromboxano A2

UTR: Región no traducida

VCAM: moléculas de adhesión vascular

B. **RESUMEN**

Los microARNs (miARNs) son pequeñas moléculas, entre 19 y 25 nucleótidos, de ARN no codificante, que regulan negativamente la expresión génica a nivel post-transcripcional, al inhibir la traducción y degradar los ARN mensajeros.

Los miARNs controlan procesos biológicos como la proliferación celular, la diferenciación, la angiogénesis y la apoptosis. La desregulación de los miARNs está íntimamente relacionada con la aparición de muchos tipos de enfermedades, desde el cáncer hasta enfermedades cardiovasculares.

Desde su descubrimiento a finales del S. XX se han convertido en una importante vía de investigación tanto para la comprensión de los mecanismos moleculares que participan en multitud de enfermedades como para el desarrollo de posibles dianas terapéuticas.

Ampliando el conocimiento del papel de los miARNs en la disfunción endotelial y de las vías de señalización alteradas por los mismos podemos descubrir nuevos biomarcadores para el diagnóstico y dianas terapéuticas para el tratamiento de la disfunción endotelial y otras complicaciones cardiovasculares.

En este trabajo se realizará una revisión sistemática de la literatura científica más actualizada con el fin de establecer y definir el papel de los miARNs en la disfunción endotelial.

Palabras clave: miARN, disfunción endotelial, NO, hipertensión.

C. **ABSTRACT**

MiRNAs are small molecules, ranging from 19 to 25 nucleotides, of non-coding RNA, which negatively regulate gene expression at post-transcriptional level by inhibiting translation and degrading mRNAs.

The miRNAs control biological processes such as cell proliferation, differentiation, angiogenesis and apoptosis. MiRNAs deregulation is involved in the molecular basis of many types of diseases, including cancer or cardiovascular diseases.

Since their discovery at the end of the 20th century, they have turned to be an important area of research both for the understanding of multitude of diseases and for the development of possible therapeutic targets.

By broadening the knowledge of the role of miRNAs in endothelial dysfunction and the molecular mechanisms used by miRNAs, we can discover new biomarkers for diagnosis and therapeutic targets for the treatment of endothelial dysfunction and other cardiovascular complications.

In this work, we have performed a systematic review of the most updated scientific literature in order to establish and to define the role of miRNAs in endothelial dysfunction.

Key words: miRNA, endothelial dysfunction, NO, hypertension.

D. INTRODUCCIÓN A LA FUNCIÓN ENDOTELIAL

D.1. Funciones del endotelio:

El endotelio vascular es una monocapa activa de células que cubre la luz de los vasos sanguíneos separando la pared vascular de la sangre circulante. El endotelio vascular consta de, aproximadamente, 10^{13} células endoteliales, las cuales representan más de 1´5 kg del total del peso corporal, y ocupan una superficie de unos 600 m^2.

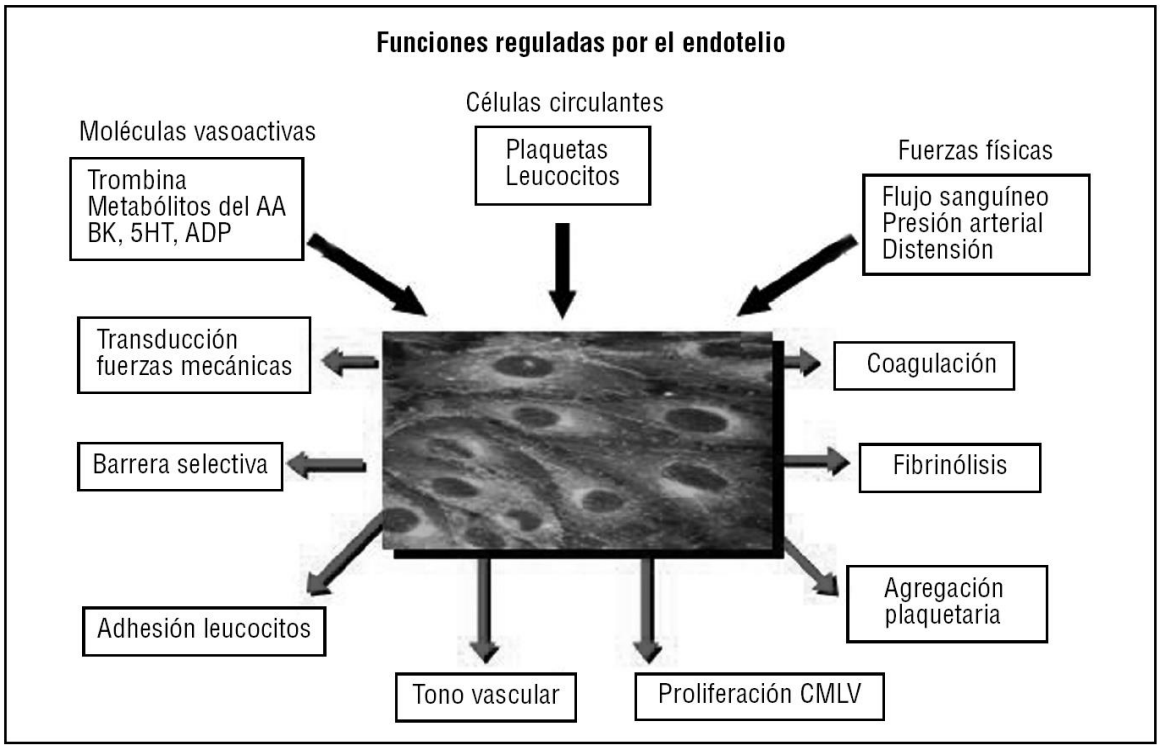

Figura1. Funciones del endotelio vascular (1).

Durante muchos años, se creyó que el endotelio era una simple barrera celular. Sin embargo, numerosas investigaciones han revelado el complejo papel del endotelio. El endotelio es una barrera altamente selectiva y un órgano metabólicamente activo (Figura 1), y desempeña un papel crucial en el mantenimiento de la homeostasis vascular mediante el control del balance entre la vasodilatación y la vasoconstricción. El efecto vasodilatador está mediado principalmente por factores como el óxido nítrico (NO), el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF) y la prostaciclina (PGI_2), mientras que el efecto vasoconstrictor está mediado por factores como la endotelina 1 (ET-1), la angiotensina II (Ang II), el tromboxano A2 (TXA2), y la prostaglandina H2 (PGH_2). Entre estos factores derivados del endotelio, se considera que el NO es el vasodilatador endógeno más potente del cuerpo. Además, el NO también mantiene la homeostasis de la pared vascular al inhibir la agregación plaquetaria, la inflamación, el estrés oxidativo, la migración y proliferación de las células del músculo liso vascular y la adhesión de leucocitos. El NO se produce y libera a partir de la L-arginina a través de la actividad de la NO sintasa endotelial (NOSe) bajo la influencia de agonistas químicos que

actúan sobre quimiorreceptores endoteliales específicos o por fuerzas mecánicas que actúan sobre los mecanorreceptores (2).

Se trata de un órgano vital endocrino y paracrino que juega un papel clave en la prevención de la ateroesclerosis. Entre las funciones del endotelio destacan:

- Mantenimiento del tono vascular.
- Barrera permeable de intercambio de nutrientes y diferentes sustancias.
- Regulación de la angiogénesis y del remodelado vascular.
- Regulación de la adhesión leucocitaria y plaquetaria.
- Regulación de la trombosis y fibrinólisis.
- Mediación de la inflamación.
- Síntesis y degradación de distintas hormonas.
- Participación en la respuesta inmune.
- Participación en la formación de Líquido Cefalorraquídeo (3).

D.2. La disfunción endotelial:

La disfunción endotelial (DE) representa la pérdida de la capacidad del endotelio para regular la homeostasis del lecho vascular. Actualmente, se considera como una de las primeras manifestaciones de la enfermedad vascular y la ateroesclerosis. La exposición crónica a distintos factores de riesgo cardiovascular y el estrés oxidativo pueden alterar los mecanismos de defensa del endotelio provocando esta alteración vascular.

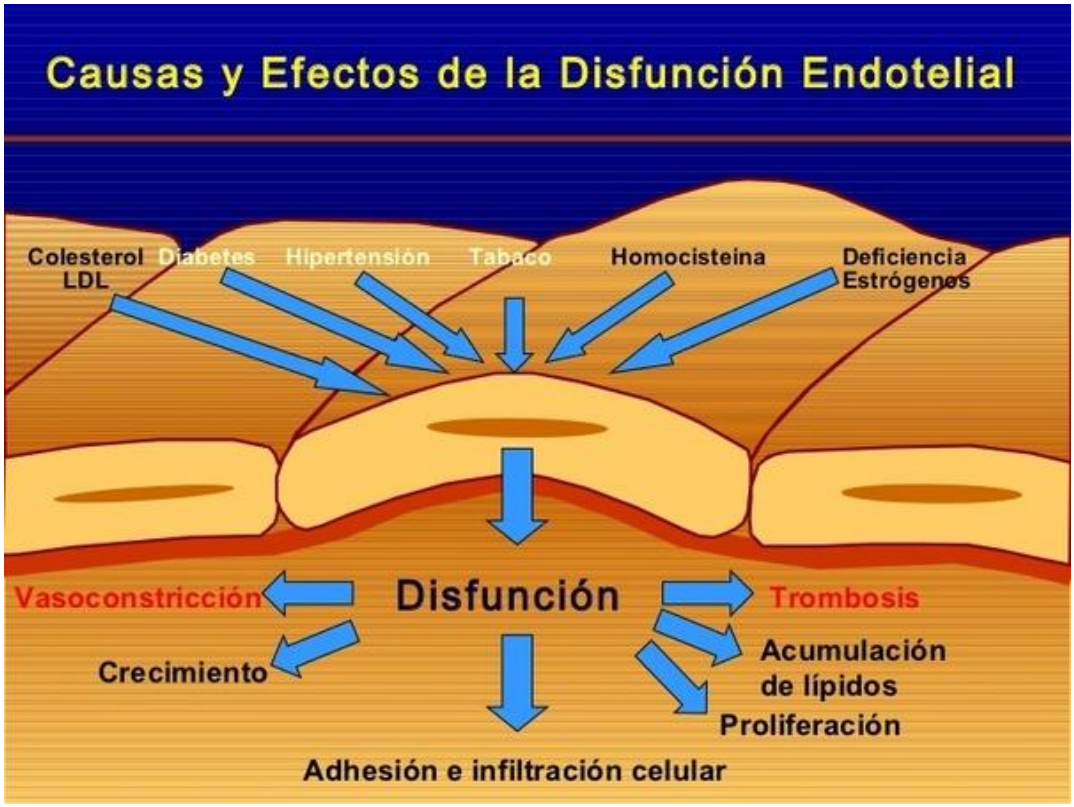

Figura2. Esquema representando las causas y efectos de la disfunción endotelial (4).

En el proceso de disfunción endotelial se produce una disminución de sustancias vasoprotectoras, debido a la disminución de la producción del NO y del EDHF, y un aumento del estrés oxidativo, que ocasiona una menor vasodilatación. En estas condiciones se desencadena la respuesta inflamatoria, mediada principalmente por moléculas de adhesión, inhibidor del tPA (activador tisular del plasminógeno) y quimiocinas. Todo esto conduce a un estado pro-trombótico.

Sustancias como la dimetilargina asimétrica (subproducto químico natural íntimamente relacionado con la L-Arginina) y péptidos vasoconstrictores como la angiotensina-II (AII) y la endotelina-1 (ET-1) también se asocian a DE.

Los factores de riesgo cardiovascular son un factor importante en el desarrollo de la DE, de hecho, existe una alta evidencia de que este proceso es un paso intermedio entre la exposición a estos factores de riesgo y el desarrollo de la enfermedad ateroesclerótica, de tal modo que la DE se observa en estadios iniciales de la mayoría de las enfermedades cardiovasculares (ECV). Por tanto, la búsqueda de nuevas estrategias y tratamientos para resolver las alteraciones que llevan a la DE es de vital importancia para prevenir la ateroesclerosis y sus síndromes asociados, ya que estas enfermedades tienen un gran impacto en la morbimortalidad y en la salud pública (2).

D.2.1. Factores predisponentes

Existen una serie de mecanismos y alteraciones que predisponen a la DE, que serán discutidos de uno en uno en los apartados siguientes:

D.2.1.1. Estrés oxidativo

Las células endoteliales sanas, al metabolizar el oxígeno, generan especias reactivas de oxígeno (ROS) potencialmente nocivas. En condiciones normales, la formación de estos radicales esta equilibrada con su eliminación. Sin embargo, en la disfunción endotelial se produce un desequilibrio entre los radicales libres y las ROS (generados en los procesos metabólicos de las células endoteliales dañadas), y la capacidad de eliminación por parte de los mecanismos anti-oxidantes. Los factores de riesgo cardiovascular generan un aumento en la producción de radicales libres y de ROS en la pared de los vasos. Todo esto produce la activación de la NADPH oxidasa (principal formador de ROS de los vasos sanguíneos) y la destrucción del NO formando peroxinitritos (que son citotóxicos y median en la oxidación de las LDL, lo que contribuye a la formación de la placa de ateroma)

D.2.1.2. Factores de riesgo cardiovascular

Diabetes mellitus

La diabetes es un factor de riesgo muy importante para el desarrollo de aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares. Además, se sabe que la hiperglucemia altera la función endotelial. Los mecanismos por los que la diabetes conduce a la disfunción endotelial son los siguientes:

- Disminución de la síntesis de NO y aumento de la producción de sustancias vasoconstrictoras.
- Aumento del estrés oxidativo que produce una mayor producción de NADPH oxidasa y formación del anión superóxido.
- La hiperglucemia conduce a la generación de productos finales de glicosilación avanzada (AGE, por sus siglas en inglés), que son productos de la glicosilación no enzimática de proteínas y lípidos. Los AGE se acumulan en la pared del vaso, alteran la integridad estructural del endotelio y la membrana basal, y son capaces de contrarrestar las acciones del NO. Esto contribuye sustancialmente a la DE. Además, los AGE se unen a receptores de superficie específicos, que se expresan en células como los monocitos, macrófagos y células musculares lisas vasculares, lo que resulta en la amplificación de una respuesta inflamatoria, aumento de la permeabilidad vascular y estrés oxidativo (5).

Dislipemia

La hiperlipidemia constituye un aumento de los lípidos circulantes, incluidos el colesterol y los triglicéridos, un estado que puede predisponer a la DE. Los posibles mecanismos que subyacen a la DE inducida por hiperlipidemia son (6):

- Regulación positiva de la NADPH oxidasa, aumento de la producción de O2 y estrés oxidativo.
- Aumento de los niveles plasmáticos de dimetilarginina asimétrica (ADMA), un inhibidor competitivo endógeno de la NOSe.
- Oxidación de las LDL; el exceso de O2 desempeña un papel importante en el desarrollo de la DE y la aterogénesis, ya que modifica el colesterol LDL para formar LDL oxidado (ox-LDL). En la Figura 3 observamos como la oxidación del LDL provoca la activación de las células endoteliales para la formación de ET-1 y moléculas de adhesión, el aumento de ADMA y caveolina-1 que conduce a una disminución de la activación de la NOSe y por ende a la disminución de la biodisponibilidad de NO que provoca la DE y el reclutamiento de macrófagos que se traduce en la formación de la placa ateroesclerótica.

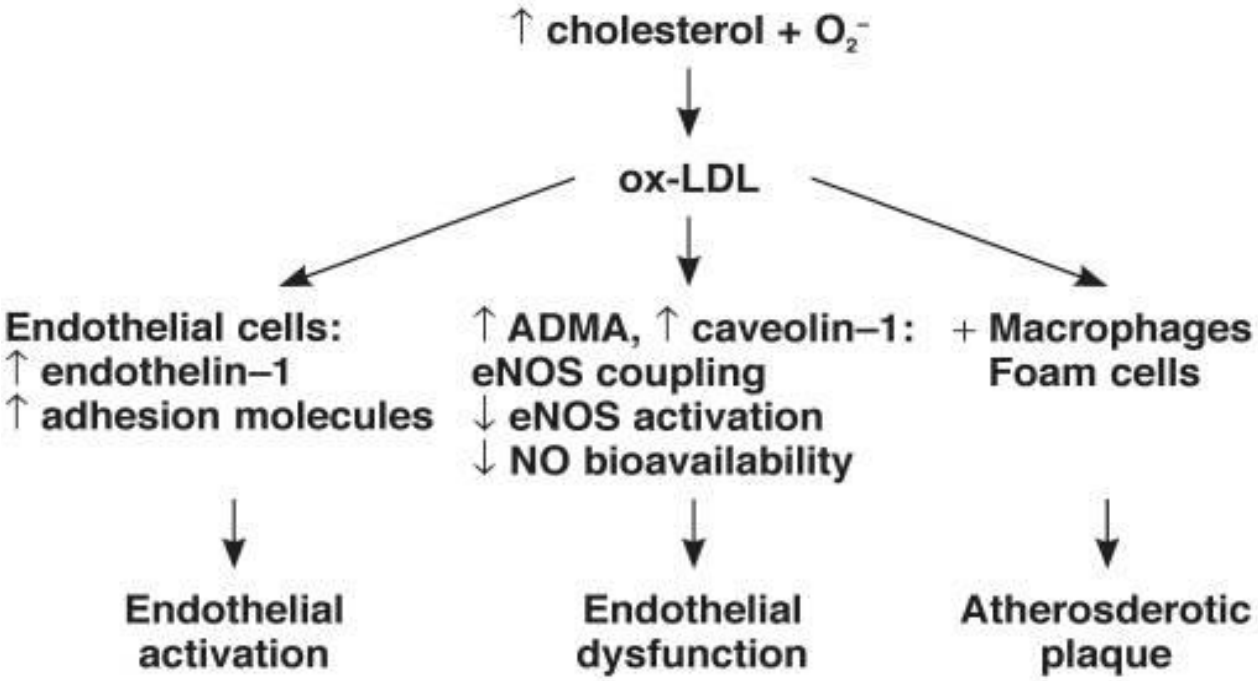

Figura3. Efecto del aumento de los niveles de colesterol y O2 en plasma sobre las células endoteliales (6).

HTA (Hipertensión Arterial)

La disminución de la vasodilatación dependiente del endotelio vascular está relacionada con la elevación de la presión sanguínea. En la HTA el endotelio se deteriora y provoca cambios funcionales en la pared vascular. Disminuye la biodisponibilidad del NO y aumenta la liberación de ROS y de factores vasoconstrictores (ET-1, Ang II, PGH_2 y TXA_2).

El "Shear Stress" (tensión tangencial) es uno de los mecanismos más importantes para la liberación de NO por parte del endotelio, sin embargo, esta respuesta se ve disminuida o incluso abolida en pacientes con HTA (2,7).

Tabaquismo

El tabaco contiene un gran número de sustancias, muchas de las cuales son altamente perjudiciales para el ser humano. El principal mecanismo que relaciona el tabaco y la DE es el estrés oxidativo, ya que el humo del cigarrillo contiene muchos radicales libres que pasan la barrera hematogaseosa directamente a la sangre; además de esto, el humo facilita la liberación endógena de ROS por la activación de células inflamatorias. Por lo tanto, fumar está asociado con el estrés oxidativo, la inflamación y la liberación de factores circulantes que se relacionan con la lesión endotelial y la DE.

Además, se ha demostrado que fumar disminuye los niveles de HDL, el cual tiene propiedades que previenen la ateroesclerosis y la DE (2,8).

Edad

Se considera que el envejecimiento es el principal factor de riesgo para el desarrollo de la aterosclerosis y, por lo tanto, para la enfermedad arterial coronaria. Además de la remodelación de la pared vascular asociada con la edad, que incluye ensanchamiento luminal, engrosamiento intimal y medial y aumento de la rigidez vascular, la función endotelial disminuye con la edad. Esto se hace más evidente debido a la atenuación de las respuestas dilatadoras dependientes del endotelio, que es una consecuencia de la alteración en la expresión y/o la actividad de la NOSe, la regulación positiva de la NOS inducible (NOSi) y el aumento de la formación de especies reactivas de oxígeno.

El envejecimiento también se asocia con una reducción de la capacidad de regeneración del endotelio y la senescencia endotelial, que se caracteriza por una mayor tasa de apoptosis de las células endoteliales (2,9).

Obesidad

Los pacientes con obesidad tienen un mayor riesgo de aterosclerosis. Es probable que la presencia simultánea de varios factores de riesgo cardiovascular aumente la probabilidad de lesión de las células endoteliales. La lesión endotelial en la obesidad se caracteriza por una vasodilatación dependiente del endotelio alterada, una mayor actividad vasoconstrictora de la ET-1, una mayor vasoconstricción mediada por prostanoides y una activación inflamatoria.

Infección

Las infecciones y la mediación del sistema inmunitario pueden contribuir en gran medida a la disfunción endotelial y la ateroesclerosis. Numerosos estudios epidemiológicos indican que multitud de agentes infecciosos predisponen a la enfermedad ateroesclerótica y sus eventos clínicos, de hecho, virus como el citomegalovirus y herpes simple (HSV-1), y algunas bacterias como *Chlamydia pneumoniae* y *Helicobacter pylori*, se han relacionado con el desarrollo de enfermedades arteriales coronarias en humanos (EAC).

Esto se explica porque durante una infección, las células endoteliales cooperan con los monocitos en la activación de las cascadas de la inflamación y la coagulación para eliminar el agente patógeno.

Durante un proceso infeccioso las células endoteliales pasan de un fenotipo quiescente (estado anti-coagulante, promotor de la vasodilatación, anti-adhesivo) a un fenotipo activado (promotor de la coagulación y la vasoconstricción, pro-adhesivo). De este modo se explica cómo las infecciones pueden contribuir al desarrollo de la disfunción endotelial. (2,3)

Inflamación crónica

La inflamación es otro mecanismo que produce DE, y parece haber una relación causal entre el estrés oxidativo y la inflamación. En condiciones fisiológicas, el endotelio controla la inflamación vascular mediante la liberación de NO. Sin embargo, un

endotelio disfuncional promoverá la generación de ROS y agravará la inflamación vascular, lo cual es perjudicial para el sistema vascular. Existen numerosos marcadores inflamatorios asociados con disfunción endotelial y aterosclerosis. La proteína C reactiva (PCR) se libera en respuesta a varios tipos de inflamación y contribuye directamente en la fase temprana de la aterosclerosis. Además, la PCR afecta directamente a la biodisponibilidad de NO.

La inflamación también está asociada con la sobreexpresión del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) y la interleucina-1, que promueve la adherencia y migración de los leucocitos.

Además, estas citoquinas inflamatorias inducen a las células endoteliales y los leucocitos a expresar moléculas de adhesión vasculares (VCAM) e intercelulares (ICAM), Proteína quimiotáctica de monocitos 1, E-selectina, P-selectina e Interleuquina 6, lo que resulta en un empeoramiento de la DE, jugando un papel clave tanto en el inicio como en la progresión de la placa aterosclerótica (2).

Déficit de Vitamina D

El déficit de vitamina D se ha relacionado con el desarrollo de ateroesclerosis y disfunción endotelial. Este déficit provoca un aumento de los valores de la presión arterial normal mediante varios mecanismos: activación del eje renina-angiotensina-aldosterona, alteraciones en la regulación del calcio, aumento del estrés oxidativo y disminución de la producción y liberación de prostaglandinas. Estos nuevos descubrimientos han supuesto la apertura de nuevas vías de tratamiento, suplementos de esta vitamina pueden ser considerados para reducir la progresión de la HTA en pacientes con bajos niveles de esta vitamina (10,11).

Shear Stress

El “shear stress” o tensión tangencial, es la tensión que ejerce la columna de sangre sobre la superficie endotelial generando una deformación de esta superficie, que dependerá tanto de la magnitud de la tensión aplicada como del estado de salud del endotelio. De este modo, las zonas donde el flujo laminar sea uniforme parecen estar relativamente protegidas frente al desarrollo de estas lesiones. La tensión tangencial ejercida sobre la pared del vaso es el estímulo físico más importante para la liberación de NO.

La tensión tangencial ejercida por la sangre sobre la superficie del endotelio va a modular el proceso aterogénico, pero de manera diferente en función de si se trata de una tensión tangencial baja (predispone a la ateroesclerosis modulando las expresiones génicas endoteliales a través de procesos de mecanorecepción y mecanotransducción, induciendo un fenotipo endotelial aterogénico al mismo tiempo que aumenta ET-1 y suprime el NO, la producción de prostaciclina y la captación de lípidos y su catabolismo) o alta (efecto protector a través de la regulación ascendente de la NOSe).

Por lo tanto, los aumentos en el flujo sanguíneo vascular y la tensión tangencial se consideran los principales mecanismos de los efectos beneficiosos del ejercicio sobre el

sistema cardiovascular. Sin embargo, el aumento excesivo de la tensión tangencial también parece estar asociado con la vulnerabilidad de la placa. Existen estudios en los que se demuestra que valores de tensión aumentados se asocian con roturas de placa o ulceraciones de la íntima en las arterias coronarias y carótidas.

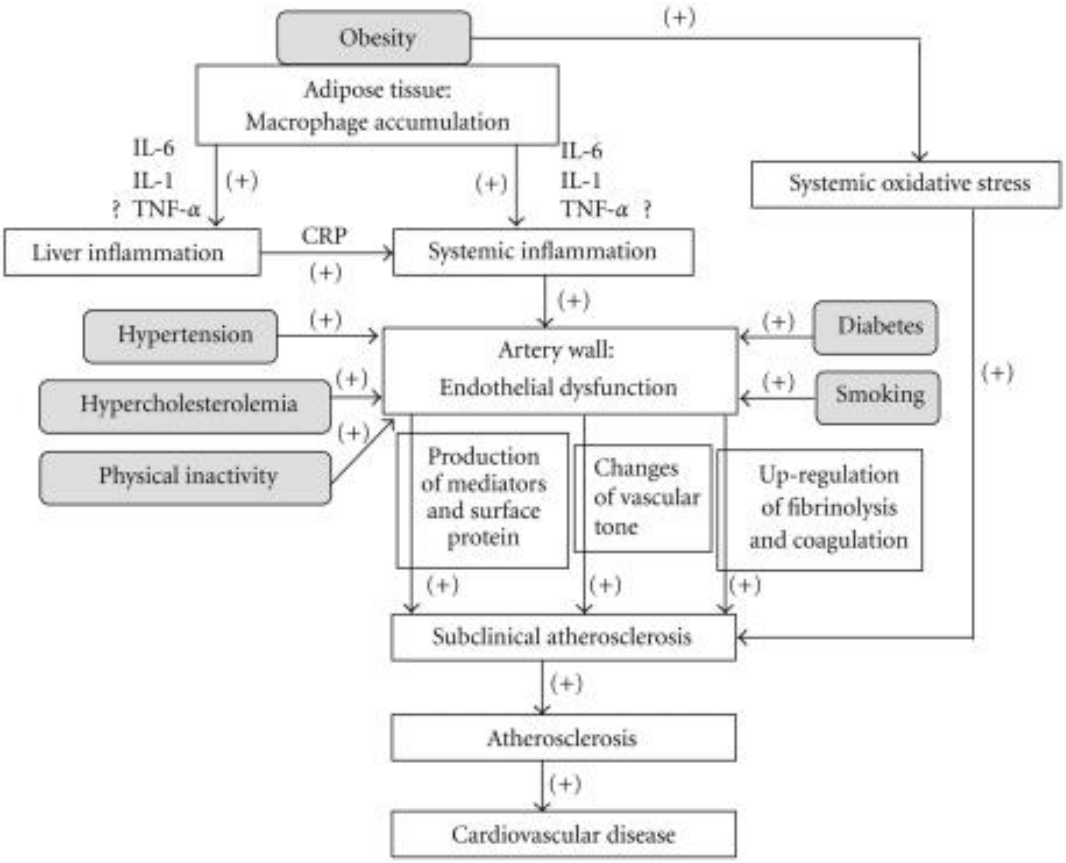

Figura 4. Cuadro resumen de los factores que predisponen a la disfunción endotelial (12).

E. INTRODUCCION A LOS MICRO ARNs

E.1. Definición.

Los micro-ARNs (miARNs) representan un grupo de ARN no codificantes de secuencia corta (19-25 nucleótidos), que regulan la expresión génica a nivel postranscripcional. Generalmente actúan sobre la expresión génica mediante el silenciamiento o degradación de los ARN mensajeros, y están implicados en la regulación de varios procesos biológicos, como la diferenciación celular, la proliferación, la apoptosis y en el desarrollo embrionario y tisular. Actualmente son un importante foco de interés para el estudio de diversas enfermedades como el cáncer o la diabetes mellitus tipo 2 (13).

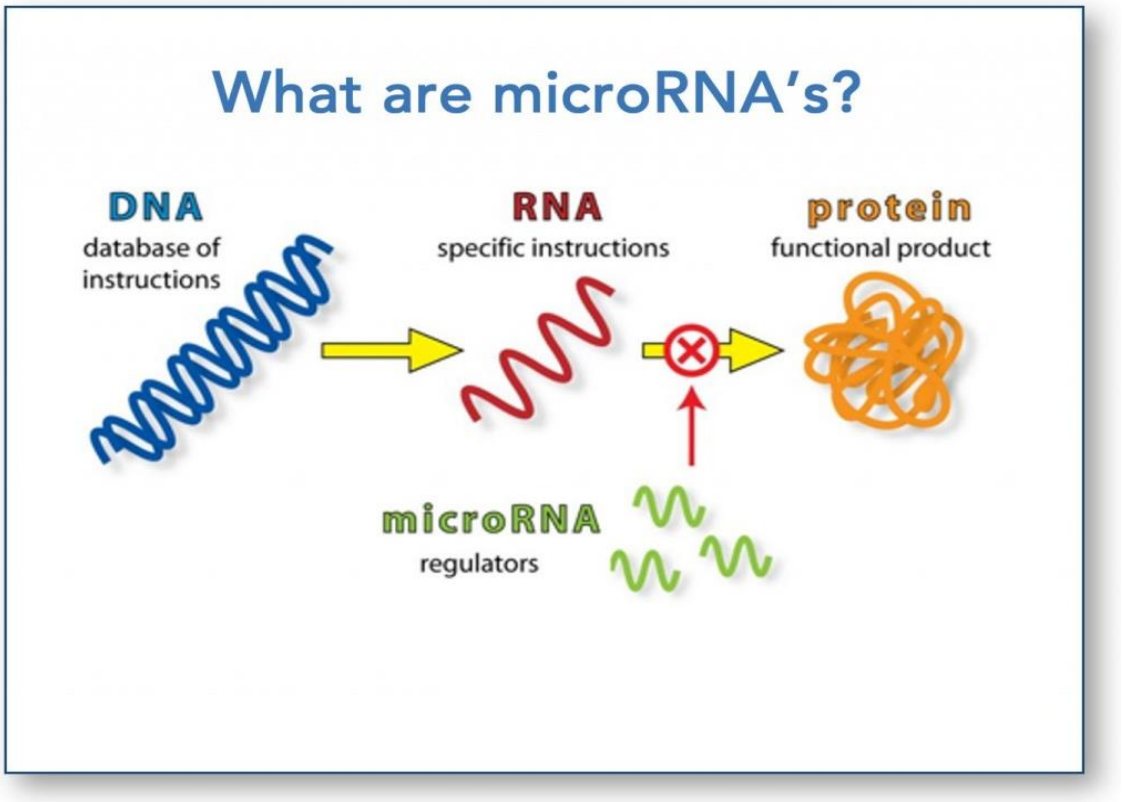

Figura 5. Los microARNs y su función como reguladores de la transcripción génica (14).

Los miARNs son moléculas de ARN transcritas a partir de genes de ADN, pero no llegan a ser traducidas a proteínas. Se expresan en una amplia variedad de organismos, desde plantas hasta gusanos y humanos. Gran parte de los miARNs están muy conservados a lo largo de la escala evolutiva, llegando incluso a encontrarse componentes de la maquinaria de estos miARNs en Eubacterias, lo que da fe de su antigüedad (15).

Lin-4 fue el primer miARN que se describió y se identificó como un elemento crucial en la regulación de las distintas etapas de los estadios larvarios del nemátodo *Caenhorabditis elegans*. Hoy en día se piensa que el genoma humano contiene más de 1.000 genes que codifican para miARN, lo que representa, aproximadamente, el 3% de los genes conocidos. El único cromosoma que no contiene genes que codifiquen miARN es el cromosoma Y (16).

E.2. Historia de los miARN:

Hasta hace dos décadas, tanto la existencia como la importancia de los miARN eran completamente desconocidas. Hasta entonces la comunidad científica estaba centrada en los genes que codificaban proteínas. Prácticamente no se estudiaban las secuencias de nucleótidos no codificadoras. Fue en el año 1993 cuando se reveló la importancia de los miARNs. Para acercarnos a la fecha de este descubrimiento debemos remontarnos unos 5 años atrás.

En 1987, Ferguson et al., mientras trabajaba en el laboratorio de Robert Horvitz, descubrió que una mutación supresora en el gen lin-14 era capaz de revertir el fenotipo de la mutación nula lin-4 en el nematodo *Caernorhabditis elegans*. De hecho, mutaciones nulas en el gen lin-14 o en el gen lin-4 generaban fenotipos opuestos. Esto hacia indicar que lin-4 podría regular negativamente a lin-14. A partir de este momento la línea de investigación se centró en el estudio del gen lin-4 y del gen lin-14.

Se determinó que el gen lin-4 debía de estar contenido en un fragmento de unas 700pb, pero no pudieron encontrar los codones de inicio y final. Aun así, introdujeron mutaciones en este fragmento, sin conseguir alterar la función de lin-4, fue así como se llegó a la suposición de que lin-4 no codificaba para ninguna proteína. Además, encontraron dos transcritos de lin-4 inusualmente pequeños, de solo 61 y 22 nucleótidos de longitud. Por otro lado, se determinó que el gen lin-14 era inhibido a nivel postranscripcional.

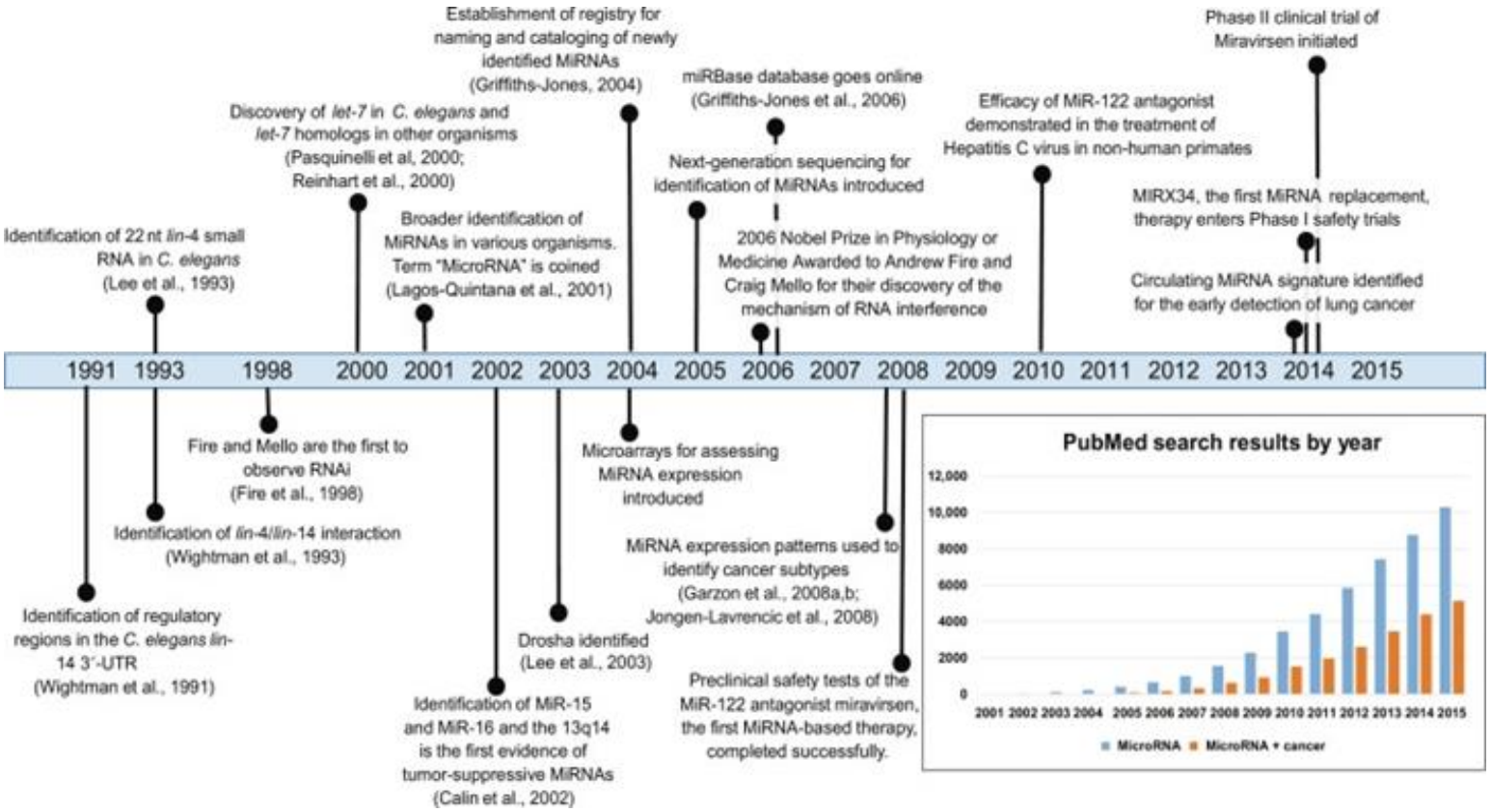

Figura 6. Cronología del descubrimiento y comprensión de los miARNs. Número de artículos que han aparecido en la literatura al incluir "miRNA" como palabra clave en la base de datos Pubmed.

Ambos estudios compartieron sus datos previamente a su publicación, y en 1992 se llegó a una importante conclusión: Los pequeños transcritos de lin-4 eran complementarios a una secuencia repetida en el 3´-UTR (UnTraslated Region: región no traducida) del gen lin-14.

En diciembre de 1993 se publica en la revista Cell, que el pequeño transcrito de lin-4 regulaba lin-14 a través de la región 3´-UTR.Si bien lin-4 fue el primer miARN descubierto, en los años siguientes, con la ayuda de herramientas de secuenciación e informáticas combinadas con la disponibilidad de los genomas secuenciados, un número creciente de miARNs fueron identificados, los mecanismos de represión de la traducción mediada por los miARNs y su importancia en los procesos de desarrollo de enfermedades se hizo mucho más clara. (17)

No se identificó ningún homólogo para lin-4 fuera de C. elegans; por lo tanto, hasta el año 2000, se pensaba que la regulación postranscripcional por ARN pequeños estaba restringida a los nemátodos. De hecho, fue el descubrimiento por parte del grupo de Ruvkun de otro miARN heterocrónico: let-7, en C. elegans, que tiene homólogos en vertebrados, incluso en humanos y otros animales, lo que provocó que se pensase en los miARNs como un mecanismo regulador del desarrollo no solo en nemátodos, si no como un fenómeno más amplio que afectaría nuestra comprensión de la regulación génica y reformaría el dogma central de la biología molecular (18).

En las últimas dos décadas, la investigación en miARNs ha avanzado a un ritmo notable (Figura 6). Esta línea de tiempo nos lleva a través del descubrimiento de los miARNs, al conocimiento de que representan un mecanismo regulador ampliamente conservado, a la apreciación de la contribución de la desregulación de los miARNs a la enfermedad y, finalmente, al inicio de los ensayos clínicos de terapias basadas en miARN.

Esta revolución de miARN se puede rastrear fácilmente mediante el examen de los resultados de búsqueda de PubMed, ya sea para "microARN" o "microARN + cáncer", los cuales muestran un aumento año tras año en el número de publicaciones (Figura 6).

E.3. Biogenia:

En la Figura 7 se muestra un esquema que recoge la formación y el mecanismo de acción de los micro-ARNs (miARN). Los genes de los miARNs son transcritos en el núcleo por la ARN polimerasa II para formar los pri-miARNs. Estos pri-miARNs son procesados por la nucleasa (Drosha) y la proteína de unión a ARN de doble hebra (Pasha) para formar los pre-miARN, que serán transportados al citoplasma por la exportina 5. Posteriormente, la ribonucleasa ARNa tipo III Dicer es capaz de generar un dúplex transitorio de en torno a 22 nucleótidos que se asociará al complejo RISC.

El miARN maduro se une a la región complementaria de la secuencia diana de ARN mensajero (ARNm) y se iniciara el silenciamiento génico de acuerdo con el grado de complementariedad entre ambas hebras. Si la complementariedad es perfecta, se provocará la degradación del ARNm, mientras que si la complementariedad es imperfecta la unión impedirá la síntesis proteica.

Un miARN puede tener muchos ARNm diana y cada ARNm puede estar regulado por varios miARNs. En diversos estudios se ha estimado que los miARNs pueden regular hasta el 30% de todos los genes humanos. Nuestro desafío para el futuro será dilucidar la función de cada uno de los miARNs en los procesos fisiológicos y en las distintas enfermedades, e identificar cuáles son los genes diana regulados por cada miARN (16).

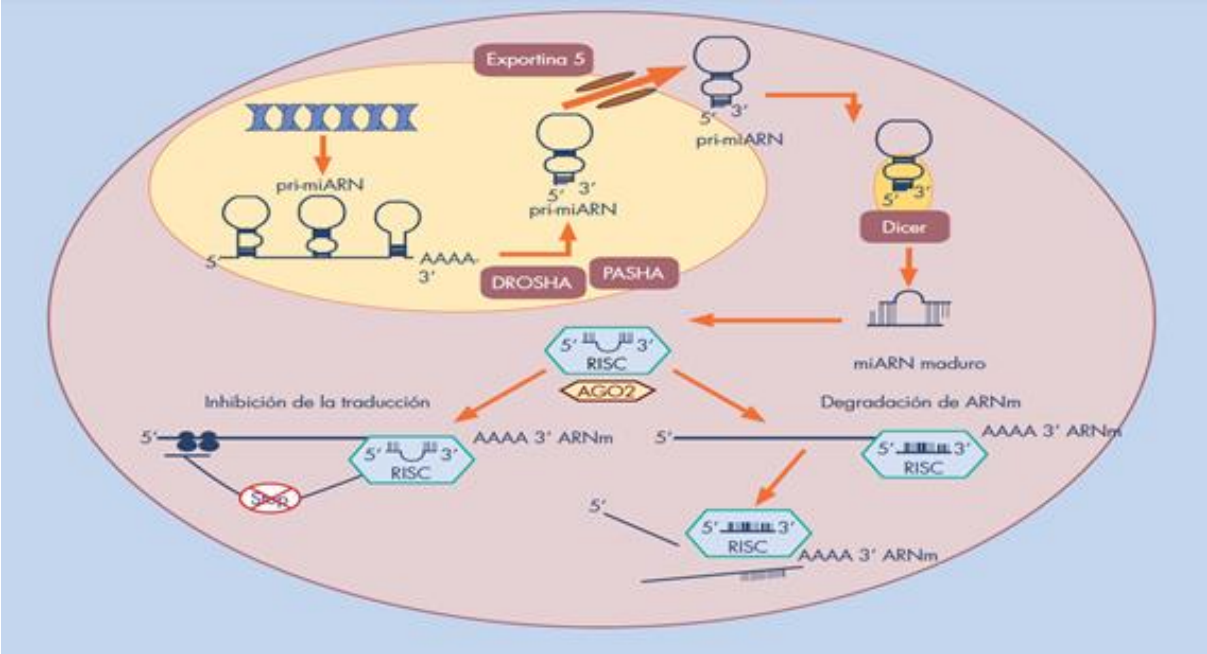

Figura 7. Formación y mecanismo de acción de los miARNs.

E.4. Función de los miARNs:

La función de los miARNs está relacionada con la regulación de la expresión génica. De esta forma un miARN es complementario de una parte de uno o más ARN mensajeros (ARNm). Los miARNs de animales suelen mostrar complementariedad imperfecta con la región 3' UTR, y generalmente inhiben la traducción del mARN, mientras que los de plantas suelen mostrar complementariedad perfecta con regiones codificantes e inducen el corte y la posterior degradación del mARN diana.

Antes de clasificarlos como parte de la ruta de silenciamiento post-transcripcional de genes específicos, los miARNs fueron catalogados como meros reguladores del desarrollo en gusanos, sin embargo, en la actualidad, además de estas funciones de control del desarrollo se han descrito multitud de otras, como el establecimiento de redes de control génico y de ajuste fino de la expresión génica en la célula. Dado que el número de dianas potenciales de los miARNs se cuentan por miles (alrededor del 30% de los genes humanos), los miARNs podrían constituir una parte muy importante del circuito de ajuste de las propias células. Según esto, cualquier tipo de alteración de los miARNs podría conllevar grandes problemas regulatorios en la célula, desencadenando distintos tipos de enfermedades. De hecho, se ha mostrado que los perfiles de expresión de los miARNs están modificados en un gran número de tipos de cáncer y que la sobreexpresión forzada de los micro-ARNs puede conducir en muchos casos al desarrollo de tumores (19).

E.5. Modo de actuación:

A pesar del gran avance en el conocimiento de la biogénesis y la función de los miARNs, los mecanismos utilizados por estas moléculas para regular la expresión génica no están del todo claros y permanecen bajo un intenso debate. De los numerosos trabajos publicados parecen consensuarse cuatro vías a través de las cuales los miARNs reprimen la expresión génica: 1. Degradación de la proteína durante la traducción, 2. Inhibición de la elongación en la traducción, 3. Terminación prematura de la traducción, 4. Inhibición de la iniciación de la traducción (20).

Además de estos cuatro mecanismos, se ha postulado que los miARNs animales pueden inducir una degradación significativa de los ARN mensajeros diana a pesar de que el emparejamiento de bases entre ARNm y miARN sea imperfecto. Los miARNs también podrían ejercer funciones de silenciamiento mediante el secuestro de los ARNm en zonas citoplasmáticas discretas conocidas como Cuerpos de Procesamiento de ARNm o Cuerpos P, que excluyen a la maquinaria de traducción.

Es difícil de entender por qué existen tantas teorías distintas para explicar cómo los miARNs son capaces de regular la expresión génica. Quizás estos diferentes modelos reflejen diferentes interpretaciones y enfoques experimentales. Otra posibilidad es que los miARNs silencien la expresión génica a través de múltiples mecanismos. Una última suposición es que los miARNs silencian la expresión génica por un único mecanismo común, y los mecanismos explicados anteriormente representen efectos secundarios de este mecanismo primario.

Existen múltiples estudios que indican que los miARNs juegan un papel importante en la patogénesis de enfermedades humanas como el cáncer, los trastornos neurodegenerativos y metabólicos, o las infecciones virales. Por lo tanto, es de vital importancia una explicación detallada de como los miARNs son capaces de mediar en la regulación génica para, de este modo, conocer el potencial de los miARN como dianas terapéuticas. Aunque se ha empezado a comprender la biogénesis de estas moléculas y a identificar los efectores claves en la función de los miARNs, los mecanismos de acción de los miARN en las células animales aún son objeto de debate. Sin embargo, se considera poco probable que los diversos mecanismos observados resulten de diferentes enfoques técnicos. Más bien, se favorece una teoría en la que la represión de miARNs se manifieste de distintas maneras dependiendo de las características específicas y la composición de su objetivo (21).

Actualmente, no podemos determinar si estos diferentes modos de represión representan múltiples mecanismos de silenciamiento independientes o salidas múltiples de un evento inhibitorio primario único (22).

E.6. Nomenclatura:

Debido al gran número de miARNs caracterizados en los últimos años y a la gran variedad de procesos en los que participan, su nomenclatura se ha establecido en función a una serie de normas generales y se ha convertido en la clave para su clasificación. Además de distinguir entre miARNs y otros ARNs, la correcta denominación de los miARN nos sirve para evitar redundancias o anotaciones erróneas.

Actualmente, los miARNs maduros se nombran con el prefijo "miR" seguido de un identificador numérico. Aunque no se indica en la primera guía de nombres de miARN, los miARNs animales se distinguen de los de plantas con el uso de guión (por ejemplo, miR-14 frente a miR172). Además, los pre-miARNs de animales se nombran con caracteres en minúscula y cursiva (por ejemplo, *mir*-14). Los nombres de los pre-miARNs de las plantas difieren por el uso de mayúsculas en el prefijo "mir" y la ausencia del símbolo de guion (por ejemplo, MIR172). Los miARN idénticos de diferentes organismos se nombran con el mismo número de identificador, excepto un prefijo de tres letras que define el nombre de la especie seguido de un guion (por ejemplo, miR172 en *Triticum aestivum*: tae-miR172 y en *Hordeum vulgare*: hvu-miR172). Los sufijos en letras denotan secuencias de miARN maduras estrechamente relacionadas que se expresan a partir de diferentes precursores o loci genómicos e indican así que son miembros de la familia de miARN (por ejemplo, tae-miR172a, tae-miR172b), y las secuencias de miARN maduras idénticas dentro de una especie se nombran con sufijos numerados después de un símbolo “guion”. Aun así, algunos de los miARNs registrados en miRBase con esta notación no tienen la misma secuencia exacta.

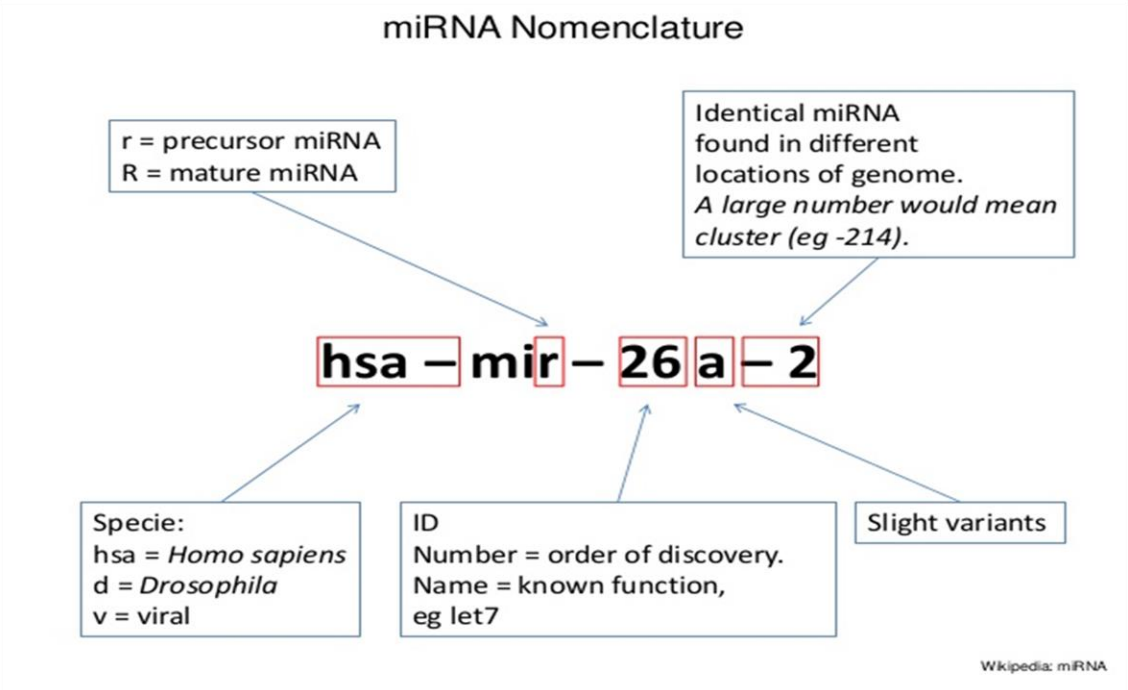

Figura 8. Nomenclatura de los miRNAs (23).

Distintas secuencias de miARN maduras generadas por el procesamiento secuencial del mismo precursor se distinguen con un número después de un punto (por ejemplo, aly-miR774a-3p.2: y aly-miR774a-3p.1 u osa-miR159a.1 y osa-miR159a.2). Sin embargo, la definición para el uso de sufijos numéricos seguido de un punto es altamente inclusiva ya que el procesamiento secuencial del mismo precursor puede dar como resultado la formación de isomiRs, que tienen casi la misma secuencia del miARN canónico conocido y otros tipos de miARN extirpados de otra región en el precursor (ARN similar a miARN) y, por lo tanto, tienen una secuencia divergente. En este caso, mientras que los isomirRs del miARN canónico tendrán casi la misma secuencia y se nombraran como miR1-3p.2, los otros miARN cortados de las distintas partes del precursor se nombraran como miR1-3p.3 y serán diferentes del miARN canónico y sus secuencias isomiR. Actualmente, los isomiR se consideran secuencias distintas en la base de datos de miARNs (24).

E.7. Papel de los miARNs en la enfermedad

Se ha demostrado que los miARNs desempeñan un papel importante en una amplia gama de procesos fisiológicos normales, como en el desarrollo, incluido el metabolismo, la proliferación celular y la apoptosis. Otras funciones reguladoras incluyen la expresión génica neuronal, la morfogénesis cerebral, la diferenciación muscular y la división de células madre.

El papel de los miARNs en procesos patológicos se está conociendo cada vez mejor, aunque en algunos casos, como en el desarrollo del cáncer aún no se conocen bien los mecanismos moleculares en detalle, aunque se ha demostrado que los patrones alterados de los miARNs en las células son responsables de los cambios que hacen que las células tomen la decisión de volverse malignas.

Niveles anormales de un miARN, tanto por exceso como por defecto, están relacionados con una serie de enfermedades clínicamente importantes que van desde el infarto de miocardio hasta la enfermedad autoinmune. Las mutaciones de un solo punto en un miARN o en su ARNm diana o el silenciamiento epigenético de las unidades de transcripción de miARN es un mecanismo por el cual se afectan las funciones de estas moléculas en la célula. Los grandes descubrimientos y el rápido progreso en los últimos años sobre los miARNs brindan la esperanza de que en un futuro próximo tengan un gran potencial en el diagnóstico y tratamiento de muchas enfermedades.

E.7.1. Cáncer

Hoy en día está bien documentado que la regulación positiva o negativa de los miARNs se produce en multitud de tipos de cáncer en humanos. Los miARNs sobre-expresados pueden funcionar como oncogenes (a través de la regulación negativa de los genes supresores de tumores) y/o como reguladores de procesos celulares como la diferenciación celular o la apoptosis.

Se han caracterizado perfiles únicos de expresión diferencial de miARNs para muchos tipos de cáncer lo que permite predecir que los miARNs tendrán un gran potencial para ser utilizados en el diagnóstico y tratamiento del cáncer en un futuro cercano.

E.7.2. Enfermedades cardiovasculares

La homeostasis del sistema vascular depende de la funcionalidad de las células endoteliales y de la regulación coordinada de la angiogénesis, la vasculogénesis y la regresión de los vasos. Poco se sabe acerca de la maquinaria reguladora a nivel de la expresión génica durante la neovascularización y el remodelado vascular. Sin embargo, el descubrimiento de miARNs en los últimos años ha hecho evidente que estas moléculas tienen una función importante en la regulación de la función cardíaca y del sistema cardiovascular de los mamíferos en general.

E.7.3. Enfermedades inflamatorias

La inflamación es un componente esencial del sistema de defensa del huésped y juega un papel esencial en la respuesta a la infección y a las lesiones, que se cree que contribuye al desarrollo de múltiples enfermedades agudas y crónicas. Recientemente, varios estudios han investigado el papel de los miARNs en la inflamación vascular y la activación de leucocitos y su infiltración en la pared vascular, y se ha descubierto como los miARNs controlan la inflamación vascular (25).

En este estudio, se demostró que miR-126 inhibe la expresión de la molécula de adhesión de células vasculares 1 (VCAM-1), que se requiere para mediar en la adherencia de los leucocitos a las células endoteliales. En macrófagos, se ha demostrado que el miR-155 es inducido por citoquinas como el TNFα y el IFN-β y contribuye a la expansión fisiológica de granulocitos/monocitos durante la inflamación. Además, se ha demostrado que miR-155 es necesario para la función de los linfocitos B y T y las células dendríticas. A nivel genético, el factor de transcripción PU.1 ha sido identificado como un objetivo directo de miR-155 en células B (26).

Otro estudio ha demostrado que miR-181 está involucrado en la regulación de la diferenciación del linaje hematopoyético y se ha descrito que varios miARNs regulan la diferenciación de las células B, incluyendo la familia miR-17-92 y miR-150. Durante la diferenciación de monocitos, se ha demostrado que la transcripción de miR-424 aumenta y regula la traducción del factor de transcripción NFI-A involucrado en la diferenciación de monocitos/macrófagos. Además, se ha podido observar que el miR-146 es inducido en macrófagos por varios componentes microbianos y citoquinas pro-inflamatorias. Por otra parte, también se ha descrito que el miR-223, en células precursoras del linaje mieloide, está involucrado en la regulación de la diferenciación y activación de granulocitos durante el proceso de inflamación. El papel de los miARNs en la regulación de cada tipo de célula parece ser importante en la modulación del sistema inmunitario lo que sugiere que pueden ser potencialmente utilizados en terapias inmunológicas (27).

E.7.4. Enfermedades del desarrollo neuronal

Los miARNs son altamente expresados en cerebros, tanto humanos como de otros mamíferos en comparación con la expresión observada en otros órganos. Los resultados de los experimentos de secuenciación de alto rendimiento indican que el número de miARNs expresados en el cerebro humano conocidos en la actualidad es de aproximadamente 550 aunque se estima que el número total real podría ser superior a 1000 en la especie humana.

La expresión de los miARNs en el cerebro cambia durante las diferentes etapas de su desarrollo, por lo tanto, algunos miARNs se expresan más abundantemente durante el desarrollo temprano en el cerebro de los mamíferos, y otros se expresan más durante el posterior. Los cambios en los niveles de expresión de miARNs en el cerebro durante el desarrollo pueden representar señales bioquímicas para la determinación del destino celular, la apoptosis y/o la programación de la división celular.

Debido a que se sabe que los miARNs están regulados dinámicamente en la neurogénesis y el desarrollo cerebral, se cree que estos pequeños ácidos nucleicos también están involucrados en el desarrollo neuronal y desempeñan un papel importante en la mediación de la plasticidad neuronal. Uno de los principales rasgos comunes que vinculan muchos de los trastornos del desarrollo neurológico, por ejemplo, la discapacidad intelectual, el autismo, el trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH) y la epilepsia, es que el inicio de la enfermedad ocurre durante los períodos de maduración y desarrollo. Por lo tanto, es muy probable que los miARNs contribuyan significativamente a la patogénesis de los trastornos del desarrollo neurológico a nivel molecular.

Se ha descubierto que los miARNs juegan un papel importante en algunas enfermedades como en los síndromes de Rett, Down, del cromosoma X frágil, la esquizofrenia, o la enfermedad de Alzheimer (28).

E.7.5. Enfermedades Autoinmunes

Los resultados, obtenidos tanto *in vitro* (a partir de los cultivos celulares) como *in vivo*, obtenidos de los estudios llevados a cabo en animales, indican que los miARNs tienen un papel importante en la regulación de las funciones inmunitarias normales y en la prevención de la autoinmunidad. Lo que no está claro aún es el mecanismo o mecanismos precisos por los cuales la desregulación de los miARN podría conducir a la patogénesis en una enfermedad autoinmune. Estas pequeñas moléculas parecen jugar un importante papel en el desarrollo de dos de las enfermedades autoinmunes más frecuentes, el lupus eritematoso sistémico (LES) y la Artritis Reumatoide (29).

E.7.6. Enfermedades hepáticas

El hígado está compuesto por muchos tipos de células y cada tipo de célula puede tener una expresión de miARN distinto. En los últimos años, la mayor comprensión de las funciones de los miARNs en la fisiología hepática ha provocado el descubrimiento del

papel de estos pequeños ácidos nucleicos en las enfermedades hepáticas como en la hepatitis viral o en las enfermedades poliquísticas hepatorrenales.

Existen estudios que sugieren que el virus de la hepatitis B (VHB) tiene la capacidad de usar los miARNs de las células infectadas para regular su propia expresión génica. También los miARNs de las células huésped pueden desempeñar un papel en la regulación de los genes virales. Recientemente se ha descubierto que el miARN-122 facilita la replicación del virus de la hepatitis C (VHC) al atacar la región no codificadora del virus (30).

E.8. Perspectiva

Numerosas líneas de investigación están proporcionando evidencia de que los miARNs desempeñan un papel fundamental en una variedad de procesos de desarrollo y enfermedades, tal como se ha analizado en los apartados anteriores. Los miARNs, como una clase especial de RNA no codificantes, pueden regular negativamente la transcripción de forma postranscripcional; por lo tanto, se predice que tendrán un gran potencial en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades. Por ejemplo, en los últimos años, varias técnicas como el silenciamiento específico de algún determinado miARN, el bloqueo anti-sentido y la modificación de miARN se están proponiendo para el tratamiento terapéutico potencial de varios tipos de cáncer. A medida que el papel de los miARNs se aclare y se establezca en cada enfermedad, seguramente veremos nuevos métodos desarrollados para abordar el diagnóstico y tratamiento de las principales enfermedades humanas. Este nuevo conocimiento podría tener un papel importante en el desarrollo de la medicina personalizada en un futuro próximo (31).

F. PAPEL DE LOS microARNs EN LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

El endotelio vascular está constantemente expuesto a fuerzas hemodinámicas (como el estrés de cizallamiento que resulta de la presión circulatoria que ocasiona el flujo sanguíneo sobre la pared vascular) que están involucradas en el mantenimiento de la homeostasis vascular. Estas fuerzas físicas, que regulan de manera importante el fenotipo y la función endotelial, son detectadas y traducidas por las células endoteliales (CE) generando varias respuestas biológicas a través de un proceso complejo que implica moléculas clave, como integrinas, proteínas G, proteínas quinasas y miARNs. Mediante la integración de los cambios hemodinámicos y otras señales bioquímicas, las CE controlan el tono y la permeabilidad vascular, la proliferación de células musculares lisas (CML), el tráfico y la adherencia de leucocitos y la inflamación y trombosis (32).

Nuevos estudios indican que algunos miARNs son sensibles al flujo vascular, conocidos como mecano-miARNs, regulan la expresión de genes endoteliales, jugando un papel importante en la angiogénesis, proliferación y función de las CE, y, por tanto, en la disfunción endotelial. Varios miARNs, como miR126, miR-10a, miR-19a, miR-23b, miR-21, miR-663, miR92a (y posiblemente otros miembros del grupo miR-17-92), miR-143/145, miR-101, miR-712, miR-205, miR-155, 146a y miR-181b han sido identificados como mecano-miARNs. Estos mecano-miARNs participan activamente en vías de señalización claves involucradas en ciclos de las CE, inflamación, apoptosis y señalización mediada por el NO. Entre todos estos mecano-miARNs, algunos tienen efectos anti-aterogénicos mientras que otros tienen efectos pro-aterogénicos, vasoprotectores y anti-inflamatorios mediante la inhibición de la vía NF-kB. Los mecano-miRs anti-aterogénicos son: miR-10a, miR19a, miR-23b, miR-101 y miR-143/145. Estos miARNs incrementan su expresión cuando el flujo vascular es laminar y disminuyen cuando el flujo vascular es turbulento. Por otro lado, los mecano-miARNs pro-aterogénicos son: miARNs del grupo miR-17-92, miR-92a, miR-663, miR-712, y miR-205. Estos aumentan su expresión en situaciones de flujo turbulento y gran estrés de cizallamiento y parecen inducir disfunción endotelial y respuestas pro-aterogénicas (33, 34).

Estudios recientes han demostrado que algunos miARNs como miR-146a y miR-181b reducen la inflamación endotelial. La liberación de estos miARNs provoca una disminución en la expresión de varias quimiocinas, incluyendo CCL2, CCL5, CCL8 y CXCL9, y reducen la adherencia de los monocitos a las CE. De este modo, las moléculas clave implicadas en la regulación del tono vascular están reguladas por varios miARNs. Además, hay varios mecano-miRs con un doble papel en la aterosclerosis, como miR-21, miR-126 y miR-155. Esto demuestra que un solo miARN puede estar involucrado en respuestas tanto anti- como pro-aterogénicas (35).

Además de su papel en la homeostasis vascular, también es conocido que las CE liberan mediadores que modulan la función de las CML vasculares participando así de manera decisiva en la remodelación vascular. Se ha demostrado que el miR-143/145 derivado del endotelio puede transferirse a las CML a través de vesículas extracelulares, y esta transferencia mediada por vesículas previene la diferenciación de las CML vasculares. Curiosamente, las CML también pueden transferir miR-143 y miR-145 a las células

endoteliales, reduciendo la proliferación de las CE y por lo tanto modulando la angiogénesis. (36)

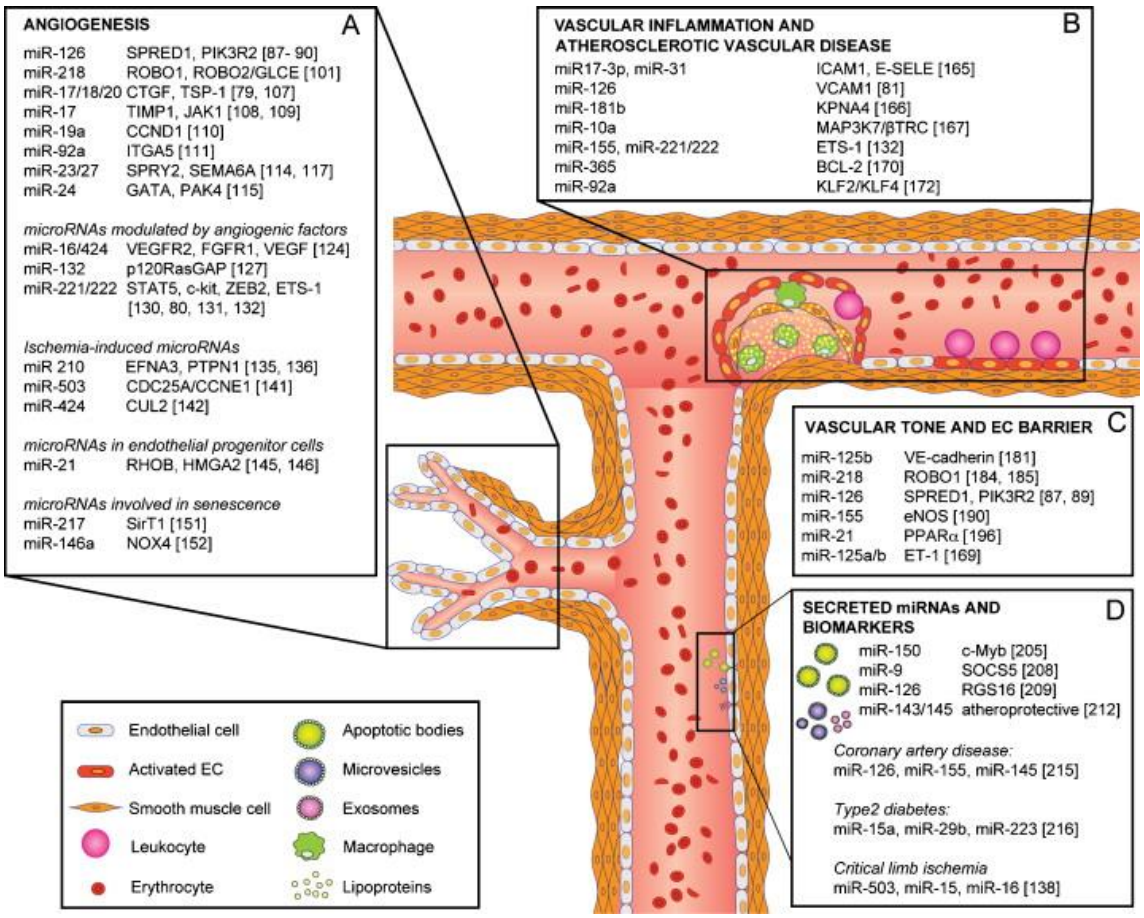

Figura 9. Papel de los miRNAs en el fenotipo y funciones de las células endoteliales, su papel en la enfermedad vascular y sus dianas directas (37).

Con todo lo anteriormente descrito, a partir de este punto se analizará el papel del miARN en los distintos factores que producen disfunción endotelial.

F.1. MiARNs en la DE asociada a hipertensión vascular

El factor de riesgo más importante para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares prematuramente es la hipertensión con un endotelio disfuncional provocado por la activación de las CE como resultado de su exposición constante a una elevada PA intramural. Por lo tanto, el aumento de la presión arterial altera el fenotipo y la función de las CEs. Las CEs disfuncionales participan en la patogenia de la hipertensión de distintas maneras: mediante la disminución de la vasodilatación, reducción de la biodisponibilidad de NO, liberación de mediadores inflamatorios y pro-coagulantes, y la angiogénesis defectuosa causando la rarefacción capilar. Varias investigaciones recientes indican que la desregulación de miARNs es un factor importante en el desarrollo de la disfunción endotelial debido a que alteran la expresión y actividad de la NOSe, la reparación endotelial, la angiogénesis de la pared vascular, o la expresión de

moléculas inflamatorias. También el aumento del estrés oxidativo genera disfunción endotelial. Se ha demostrado que las moléculas clave implicadas en la regulación del tono vascular son diana de varios miARNs (33).

En los últimos años, muchos estudios hablaban de que los cambios en niveles plasmáticos de varios miARN, así como la desregulación de la expresión de miARNs en el tejido, están directamente vinculados a la enfermedad cardiovascular (ECV). Recientemente, por ejemplo, Simionescu et al., han analizado miARNs en suero y HDL obtenidos de pacientes con y sin hiperglucemia que sufren de síndrome coronario agudo o angina estable. Sus resultados han revelado que los niveles de miR-223, miR-92a, miR-486, miR-122, miR-125a y miR-146 eran superiores en los sueros de pacientes hiperglucémicos con síndrome coronario agudo en comparación con los sueros de pacientes normoglucémicos que padecen síndrome coronario agudo. Además, miR-223 y miR-486 abundaban en HDL2, y miR-92a en HDL3. Curiosamente, estos niveles de miARN son mayores en HDL de pacientes hiperglucémicos con síndrome coronario agudo versus normoglucémicos, los resultados discriminan entre pacientes con síndrome coronario agudo o con angina estable (38).

Por otro lado, miR-486 y miR-92a han sido asociados a enfermedad coronaria estable o inestable. Se han encontrado niveles más altos de miR-486, miR-92a y miR-122 en suero de pacientes con enfermedad coronaria arterial. Otros cinco miARNs, miR-125a-5p, miR-146a, miR-10a, miR-21 y miR-33a, se han detectado en la fracción α de las lipoproteínas del suero y también se ha encontrado miR-33a en la fracción β. Es importante tener en cuenta que los niveles circulantes de miR-125a-5p y miR-146a están aumentados en sueros de pacientes con hiperlipidemia y/o hiperglucemia. Además, niveles circulantes de miARNs específicos de tejido cardiaco, incluyendo miR-1, miR-133a, miR-208a, miR-208b, y miR-499, se encuentran elevados tanto en la enfermedad coronaria como en la insuficiencia cardíaca, y es posible que se puedan usar como biomarcadores de la severidad de lesión miocárdica (38).

En un estudio prospectivo destinado a investigar la asociación entre los miARNs circulantes y la incidencia del infarto de miocardio, tres de diecinueve miARNs, que fueron cuantificados en el plasma de 820 participantes, se relacionaron significativamente con el infarto de miocardio: miR-126, el regulador principal de la homeostasis endotelial y la integridad vascular mostró una asociación positiva, mientras que miR-223 y miR-197 presentan una asociación inversa con el riesgo de enfermedad. Curiosamente, miR-223 es anti-angiogénico, previniendo la proliferación de las células endoteliales, al menos en parte a través de la β1 integrina. Cabe destacar que miR-223 se utiliza como biomarcador y diana terapéutica en la inflamación, el cáncer o la obesidad. En una pequeña cohorte de pacientes que han sufrido un infarto de miocardio, el perfil temporal de los niveles circulantes de miR-1, miR-21, miR-29a, miR-133a, y miR-208 han sido asociados con la remodelación ventricular izquierda (39).

Por lo tanto, el sistema cardiovascular se considera muy sensible a los cambios en los niveles de miARNs circulantes, en consecuencia, los miARNs podrían ser actores importantes en la patogénesis de la disfunción endotelial asociada a la hipertensión por

modulación de los componentes del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS), liberación endotelial de NO, producción de ROS, así como por la regulación de respuestas inflamatorias y angiogénicas de las células endoteliales (Figura 10).

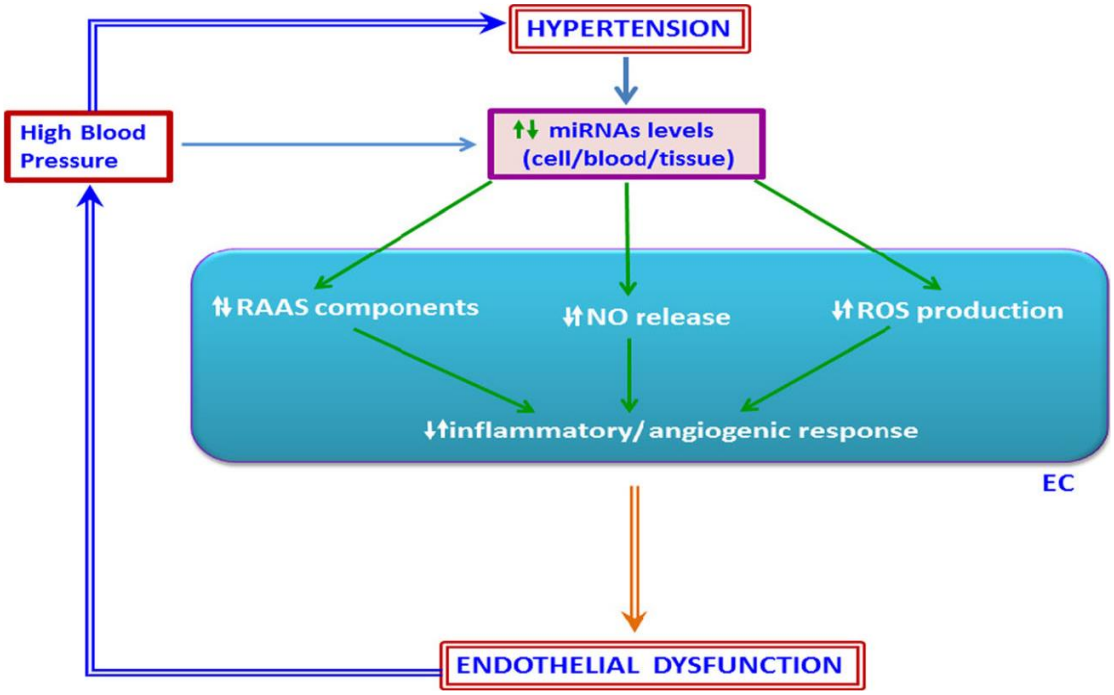

Figura 10. Papel de los miARNs en la DE asociada a hipertensión.

F.2. MiARNs y sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (RAAS)

El sistema RAAS juega un papel crítico en el control de la presión arterial, en el balance de líquidos y electrolitos, y en el control del tono vascular. La activación excesiva de RAAS está involucrada en la etiología de la hipertensión, de hecho, el bloqueo farmacológico de RAAS es una vía importante para el tratamiento de la hipertensión y de otros trastornos vasculares.

Numerosas evidencias indican que los miARNs interactúan con los componentes RAAS, participando en procesos fisiológicos y fisiopatológicos, actuando tanto como mediadores o como objetivos de los inhibidores de RAAS. Un estudio de Marques et al. demostró que miR-181a-5p se une al 3'UTR del ARNm de la renina, reduciendo su expresión génica, y una mayor expresión del ARNm de la renina en individuos hipertensos se acompaña de una menor expresión renal de miR-181a-5p (40).

Además, se ha visto que la expresión de renina está controlada por miR-663. La ECA (Enzima Convertidora de la Angiotensina) ha sido identificada como un objetivo de miR-145. Se ha visto que ECA está regulada a la baja por una proteinquinasa a través de un mecanismo que implica la fosforilación de p53 lo que induce un aumento en la expresión de miR-143/145. Estos resultados sugieren que la sobreexpresión de miR-145 puede inhibir la remodelación vascular patológica (41).

Se ha descrito que la Angiotensina II regula la expresión de miR-29b, miR-129-3p y miR-212 a través de mecanismos dependientes de la activación de Gαq/11 y ERK1/2. Asimismo, datos recientes sugieren que miR-132 y miR-212 están involucrados en la hipertensión inducida por la Angiotensina II. Es conocido que la Angiotensina II regula múltiples aspectos de la función de las CEs. Entre muchas otras funciones, la Angiotensina II induce la expresión de endotelina (ET-1), un factor clave de transcripción endotelial que está involucrado en la regulación de la inflamación endotelial, angiogénesis, y remodelación vascular (42).

Un estudio de Zhu et al., reveló un papel importante de miR-155 en la regulación de la Angiotensina II y la señalización de ET-1. Demostraron, en una línea celular constituida por células endoteliales de la vena del cordón umbilical humano (HUVEC) la alta expresión de miR-155 y miR-221, y proporcionaron evidencia de que miR-155 interactúa con el receptor 1 de la angiotensina II (AT1R), y que miR-155 y miR-221/222 son capaces de interactuar con ET-1 (43).

Estudios recientes han permitido determinar que la sobreexpresión de miR-155 es capaz de inhibir la expresión de la proteína AT1R (tanto a nivel de ARNm como de proteína) en cardiomiocitos hipertróficos tratados con Angiotensina II. Dado que el AT1R es un importante factor para el desarrollo de hipertrofia cardíaca y vascular, es probable que miR-155 pueda constituirse en una diana terapéutica para mejorar la condición hipertensiva mediante la modulación de la expresión de AT1R.

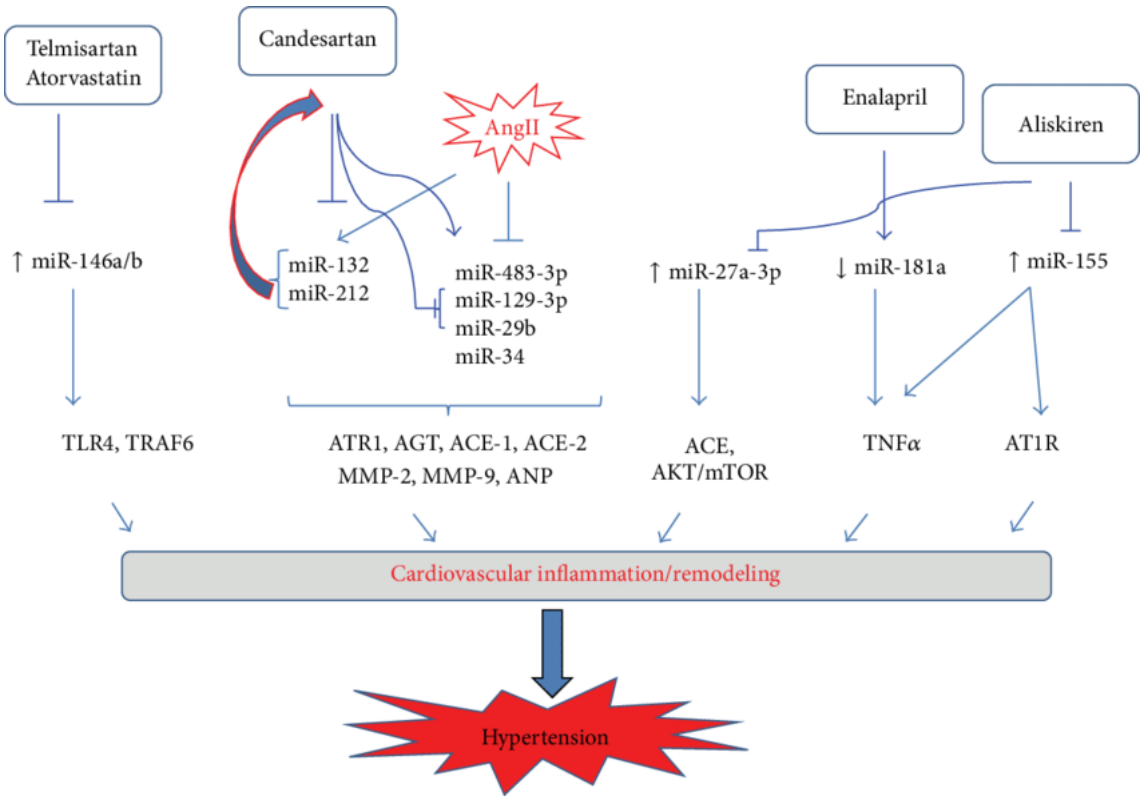

Figura 11. Señalización por miARNs y modulación específica de algunos inhibidores de RAAS (44).

Aunque los hallazgos anteriores sugieren que miR-155 tiene un papel protector en la función de las CE, otros investigadores sostienen que miR-155 se dirige a la región 3 ’ UTR de NOSe en las células HUVEC, sugiriendo que esto puede promover disfunción de las CE. Por lo tanto, la disminución de la expresión de miR-155 condiciona un aumento la expresión de NOSe y la producción de NO en CEs (45).

Cabe destacar que existen miARNs que modulan la señalización de ACE2, con efectos favorables para el sistema cardiovascular lo que sugiere que la investigación de estos miARNs podría llevar a desarrollar nuevas estrategias terapéuticas para prevenir o tratar la hipertensión y las enfermedades vasculares relacionadas con la misma (46).

F.3. MiARNs como moduladores de la síntesis y liberación de NO

El NO es un importante regulador de la vasodilatación y del flujo sanguíneo y un protector del sistema cardiovascular mediante su contribución a una función endotelial correcta. Ha sido demostrado por muchos estudios *in vivo* e *in vitro* que la liberación de NO puede ser modulada por diversos miARNs, y las complicaciones vasculares en la hipertensión se asocian, a menudo, con el deterioro endotelial causado por desregulación de los miARNs. En la hipertensión, las alteraciones del flujo modulan los niveles de algunos miARNs en las CEs. Como ejemplo a este respecto, un estudio mostró que miR-122 contribuye a la disfunción endotelial en la hipertensión al disminuir el metabolismo de la L-arginina y del NO. Es bien sabido que la L-arginina es el precursor y componente esencial para la síntesis de NO, que a su vez induce vasodilatación, y la activación del gen SLC7A1 (Solute Carrier Family 7 Member 1), el cual codifica para el transportador de L-arginina, controlando por tanto el metabolismo normal del NO. Parece que el miR-122 se une al sitio 3’UTR de SLC7A1, y produce una diminución de los niveles de este transportador lo que posteriormente causa niveles más bajos de NO y disfunción endotelial en pacientes hipertensos (47).

Otros dos miARNs se han propuesto como biomarcadores de la disfunción de las CEs en la hipertensión: miR-182 como un nuevo actor en la interacción entre CEs y cardiomiocitos; y miR-155 como un nuevo enfoque terapéutico en el tratamiento del daño endotelial y mejoría de la disfunción durante la progresión de la ECV.

Específicamente, se ha demostrado que el aumento de la expresión de miR-182 induce la activación de la ruta Akt/mTORC lo que lleva a la disfunción endotelial al disminuir la liberación de NO. El aumento de la expresión de miR-155 está inversamente relacionado con la expresión de NOSe y la liberación de NO lo que lo señala como un factor crucial inhibidor de la vasorrelajación dependiente del endotelio, por tanto, es probable que este miARN participe en la patogenia de la hipertensión. MiR-155 se une al extremo 3' de su ARNm objetivo para controlar la expresión de NOSe, contribuyendo así a la biodisponibilidad de NO responsable de mantener la homeostasis. En consecuencia, miR-155 puede considerarse como un factor pro-inflamatorio, ya que el NO tiene propiedades anti-inflamatorias, inhibiendo la adhesión de leucocitos y previniendo, de

esta manera, la inflamación vascular y la vasodilatación deteriorada en la hipertensión (48).

Otro mediador de la regulación de la liberación de NO es miR-221/222 que parece ser responsable de reducir la secreción de NO y disminuir la expresión de ARNm de NOS3 en CEs. El grupo miR-221/222 también participa en el mantenimiento de la integridad endotelial. Varios estudios evidenciaron los efectos reguladores negativos de miARN-221/222 en varios genes clave. Cabe destacar que el grupo miR-221/222 suprime la producción por parte del endotelio de metaloproteinasas de matriz (MMP), varios moduladores de adhesión clave, como ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular-1), VCAM-1 (molécula de adhesión de células vasculares-1), integrina-β3 y eNOS, promoviendo la DE. Además, la expresión vascular aumentada de miR-221/222, en estadios ateregénicos tempranos provoca la apoptosis de CEs y disfunción endotelial (49).

Adicionalmente, se ha descrito que cuando se tratan las células HUVEC con atorvastatina se producía una disminución de la expresión de miR-221 y miR-222, mientras que con simvastatina y ezetimibe se reducía solo la expresión de miR-221. Dado que las estatinas llevaron a la disminución de la expresión de miR-221/222, estas han sido consideradas como responsables del aumento de los niveles de ARNm de NOS3. Estos resultados aportan nuevos datos sobre la contribución del complejo miR-221/222 a la liberación de NO mediada estatinas. Además, los autores concluyen que, aunque ezetimibe no ha modulado los niveles de NO y la expresión de NOS3, la regulación a la baja de miR-221 podría implicar potenciales efectos sobre la función endotelial. Por otra parte, no se ha observado ningún cambio en la expresión de miR-1303 después de los tratamientos con estos tres medicamentos para bajar el colesterol: atorvastatina simvastatina (inhibidores de la síntesis de colesterol) y ezetimiba (inhibidor de la absorción de colesterol) (50).

F.4. MiARNs como controladores del estrés oxidativo

El estrés oxidativo juega un papel crucial en la ECV, como la hipertensión, la insuficiencia cardíaca, hipertrofia cardíaca y aterosclerosis. En la remodelación vascular que se produce en la hipertensión, el estrés oxidativo se ha asociado con varios aspectos como la disfunción endotelial, la inflamación, la migración celular, la apoptosis, y la angiogénesis. Niveles elevados de ROS dañan tanto transcripcional como postraduccionalmente las CEs vasculares y también inducen cambios en el ADN mitocondrial y la biogénesis. En consecuencia, se produce un daño global de las defensas anti-oxidantes del organismo.

En la biogénesis de miARN, Dicer escinde precursores de miARN generando dúplex cortos de miARN de doble cadena. La cadena inactiva o cadena portadora llamada miARN* (miARN estrella) o cadena de pasajeros, que generalmente se degrada, parece estar estabilizada selectivamente por el estrés oxidativo. En macrófagos, la ruta NF-kB está modulada por varios miARNs sensibles al estrés oxidativo: miR-27a, miR-27b, miR-29b, miR-24 y miR-21, que afectan a las funciones celulares. Además, se han encontrado

muchos miARNs que juegan un papel clave en la regulación de las respuestas frente al estrés oxidativo en numerosas enfermedades vasculares. Sin embargo, por el momento, no existen demasiados estudios que relacionen a los miARNs con el estrés oxidativo en la DE asociada a hipertensión. Recientemente se ha demostrado que miR-1 interacciona con proteínas relacionadas con reacciones redox: superóxido de Cu/Zn dismutasa (SOD1), glutamato-cisteína ligasa (Gclc), y Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD), y postranscripcionalmente reprime la expresión de estos genes anti-oxidantes, ya que tienen potenciales zonas complementarias a los sitios 3'UTR de estos genes (51).

Queda demostrado que los niveles de miR-1 producen alteraciones en la expresión de proteínas relacionadas con el estrés oxidativo, que podrían contribuir a la disfunción cardíaca y vascular. Además, se han detectado niveles elevados de miR-1 en ratones que sufren problemas cardiacos, de acuerdo con esta idea, otro estudio ha demostrado que la función cardiaca de los ratones se reduce significativamente cuando miR-1 está sobreexpresado. En pacientes con enfermedad coronaria asociada al estrés oxidativo, se ha visto que los niveles de miR-1 están incrementados. Además, el tratamiento anti-oxidante controla los niveles de oxidante/anti-oxidante, que puede directamente regular varios niveles de miARN, especialmente miR-1 (51).

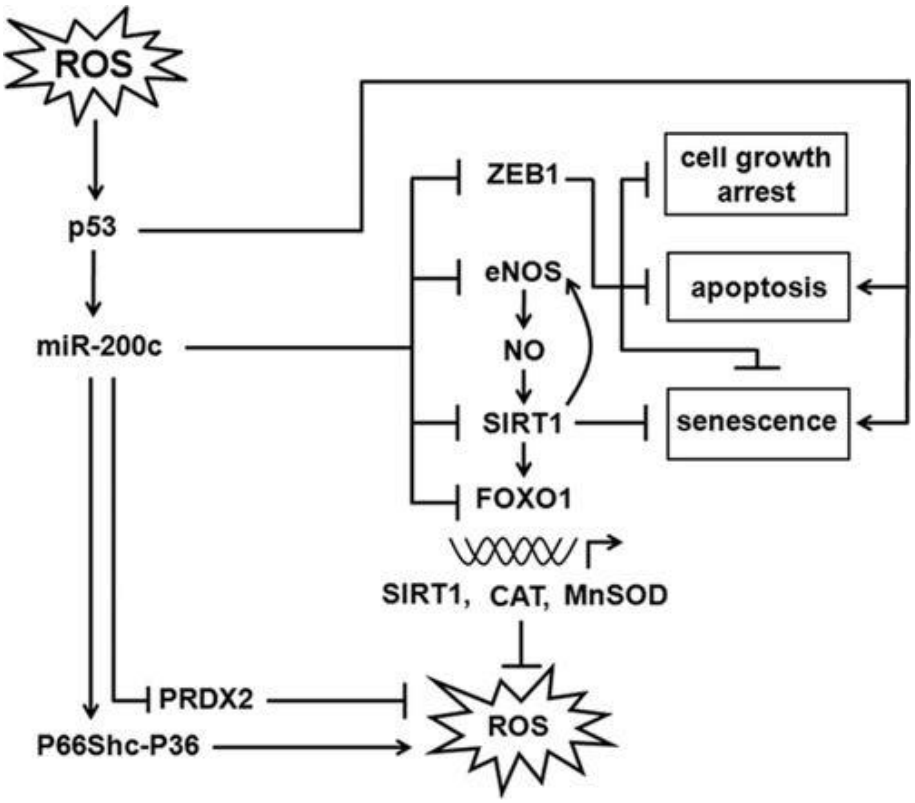

Figura 12. Relación entre miR-200 y sirtuina (52).

El miR-1 junto con otros miARNs como miR-499, miR-133a, y miR-133b, parece desequilibrar la relación entre oxidantes y anti-oxidantes en el miocardio en la miocardiopatía diabética. De acuerdo con estos hallazgos, miR-200c, miR-200a y miR-141 son los principales efectores del estrés oxidativo induciendo respuestas biológicas en CEs (53).

El mecanismo de acción de miR-200c, miR-200a, y miR-141 tiene como objetivo p38α MAPK, una molécula de señalización que contribuye a la regulación de las respuestas celulares al estrés, así como al control de la proliferación y supervivencia de muchos tipos de células.

Cabe destacar que el estrés oxidativo regula un grupo de miARNs dirigidos al sitio 3'UTR de regulación de información de tipo de apareamiento silencioso 2 (sirtuin 1 o SIRT1) de ARNm homólogo. Existen miARNs que tienen como diana directa SIRT1 y miARNs que lo regulan indirectamente. Los miARNs reguladores de SIRT1 parecen estar involucrados en el desarrollo de la aterosclerosis. Por ejemplo, miR-217 participa en las enfermedades vasculares, principalmente en aterosclerosis y aneurisma aórtico abdominal, y se ha correlacionado negativamente con la expresión de SIRT1 en placas ateroscleróticas en humanos, con el estado de acetilación del promotor de FOXO1 (Forkhead box protein O1), y también con la expresión de NOSe (54).

Muchas investigaciones han demostrado una correlación positiva entre Los niveles de miR-21 circulantes y la presión arterial en pacientes hipertensos. De todos modos, un estudio muy reciente con ratones ha observado una reducción significativa de la presión arterial y la hipertrofia cardíaca cuando se activa miR-21. Este trabajo describe una función positiva de miR-21 en la traducción mitocondrial, lo cual es suficiente para disminuir la presión arterial y mejorar la hipertrofia cardíaca en estos ratones. Una posible explicación propuesta por los autores del estudio es que la inducción de miR-21 inhibe la formación de ROS en la mitocondria y forma parte de un complejo sistema compensatorio. Nuevamente estos datos nos llevan a pensar que el descubrimiento de nuevas terapias basadas en miARN podrían ayudar en el futuro a los pacientes hipertensos (55).

F.5. MiARNs en la inflamación vascular

Dado que la inflamación contribuye activamente al desarrollo de diferentes enfermedades vasculares, es de vital importancia conocer y comprender el mecanismo de acción de los marcadores inflamatorios y como son regulados por otros factores. La inflamación es iniciada por el estrés oxidativo a través de la activación de factores de transcripción como NF-κB.

En estudios sobre hipertensión *in vivo*, se ha visto que niveles elevados de PCR se correlacionan con la intensidad del estrés oxidativo dentro de las células inflamatorias. La inflamación genera la disfunción del endotelio favoreciendo, por tanto, la hipertensión. Todo proceso inflamatorio persiste hasta que se eliminan los patógenos y el tejido está completamente reparado, además, la persistencia de la inflamación puede causar sobreproducción de ROS. En Algunas enfermedades inflamatorias crónicas, los estímulos inflamatorios inducen la expresión anormal de miARNs (56).

En 2008, Harris et al., investigaron la participación de miARNs en la activación de la CE y la disfunción endotelial. Demostraron que miR-126 disminuye la expresión de VCAM-1 en CEs mediante la unión a su 3 'UTR, y por lo tanto se reducían las interacciones leucocito-CE en respuesta a TNF-α. La expresión de miR-126 está mediada, en parte, por

los factores de secuencia específica de transformación E26 (Ets), Ets-1 y Ets-2, con papel en la regulación de la diferenciación de las CEs y la inflamación vascular (57,58).

Se ha demostrado que en pacientes jóvenes que han sufrido un ACV o padezcan una enfermedad arterial coronaria los niveles circulantes de miR-126 son más bajos. Además de éste, se han descubierto varios miARNs específicos que ante determinados estímulos fisiopatológicos regulan la función de las CEs y la inflamación vascular: miR-17-3p, miR-31, miR-181b, miR-146, miR-10a y miR-92a. En cuanto a miR-17-3p, se une específicamente a los 3 'UTRs de ICAM-1, mientras que miR-31 se une a la E-selectina. Estos miRs regulan la activación de las CEs inducida por la citoquina TNF-α, un efecto que inhibe posteriormente la adhesión de leucocitos a CEs activadas (59)

Otros estudios tanto *in vitro* como *in vivo* demostraron que la sobreexpresión de miR-181b inhibe la expresión de la Importina-α3 y e induce la expresión del conjunto de genes de respuesta a NF-κB tales como VCAM-1 y E-selectina en las CEs. Más recientemente, Cheng et al., reveló que las citoquinas pro-inflamatorias reducen la expresión de miR-146a y miR-146b en CE. Como consecuencia, la sobreexpresión de miR-146a y miR-146b mejoran la activación endotelial por la inhibición de NF-kB y de las vías de las MAP Quinasas después de unirse directamente a la región UTR 3 'del factor 6 asociado al receptor de TNF (TRAF6) y HuR. TRAF6 y HuR son proteínas de unión a ARN que ejercen efecto inhibidor sobre la activación de NF-kB y la expresión de NOSe, respectivamente. Así, miR-146 es considerado un componente fundamental de un sistema de retroalimentación negativo que controla la activación y disfunción endotelial (33,60).

Otro importante estudio descubrió que el "Shear stress" regula las expresiones de miR-10a y miR-92a. MiR-10a reduce la activación de NF-kB al dirigirse a la región 3'UTR de MAPK-7 y el gen que contiene la repetición de la transductina β (βTRC), mientras que miR-92a está involucrado en la regulación de la activación del endotelio dirigida a los factores de transcripción KLF2 y KLF4 9. De acuerdo con estos datos, existe una relación inversa entre la expresión de miR-10a y de miR-92a y la expresión de NF-kB, KLF2, KLF4 en zonas aterogénicas del arco aórtico respecto a la aorta torácica en porcinos (61)

Otra evidencia que se ha descubierto *in vivo* es que el miR-21 tiene un efecto positivo en procesos de hipertensión y aterosclerosis. Así, en su estudio, Zhang et al., demostraron que la presión arterial diastólica se incrementaba y la acetilcolina inducida por endotelio dependiente de la relajación de la aorta se reducía ante la presencia de miR-21 en ratones "inactivados". También la deficiencia de miR-21 provocaba la disminución del contenido de elastina y mejoraba el grosor de la pared íntima-media de la aorta torácica. Se ha establecido que la eliminación de miR-21 aumenta las expresiones de Smad7, CTGF (factor de crecimiento del tejido conectivo), MMP-2, y MMP-10, y disminuye las expresiones de Smad2, Smad5 y del inhibidor tisular de MMP-4. Los datos de este interesante estudio revelan que el miR-21 endotelial puede jugar un papel decisivo en la remodelación vascular mediante la regulación de la señalización del factor de crecimiento transformante β1 (TGF-β1). Además, miR-125a-5p y miR-125b-5p también tienen han demostrado disminuir en ratones con hipertensión, como

consecuencia del aumento de la expresión de ET-1 (conocida como un potente péptido vasoconstrictor que favorece la inflamación endotelial y la aterosclerosis). Además, miR-155 y miR-221/222 interaccionan con Ets-1, lo cual provoca la reducción de la expresión de VCAM-1, MCP-1 y FLT-1 (Fms-like tirosina quinasa 1) y por consiguiente una disminución de las interacciones leucocito-CE y migración de las CEs. Recientemente se ha dado a conocer que la familia que está regulada al alza por el flujo turbulento se dirige al inhibidor tisular de MMP-3 aumentando la permeabilidad vascular y contribuyendo a la inflamación endotelial 33,61).

Otro estudio demostró que niveles elevados de IL-6 llevan a la reducción de la expresión de BMPR2 (receptor proteico morfogenético óseo tipo II) en la hipertensión arterial pulmonar idiopática a través de la activación del grupo miR-17/92. De acuerdo con estos datos, se ha analizado la expresión de miR-663 en células HUVEC expuestas a fosfolípidos oxidados pro-aterogénicos. El aumento en la expresión de miR-663 se ha correlacionado con la estimulación de VEGF y activación de la transcripción activa del factor 4 (ATF4). Es ampliamente conocido que las citoquinas pro-inflamatorias como IL-17, IL-6 y VEGF contribuyen al desarrollo de la hipertensión, probablemente por alterar la presión arterial y provocar daño tisular.

Más recientemente aún, estudios *in vivo* mostraron que miR-637 tiene efecto anti-inflamatorio al reducir los niveles circulantes de la proteína C reactiva (PCR). Desde que se demostró que los miARNs tienen un papel clave en la regulación postranscripcional, principalmente actuando como represores, se han descrito varias dianas de mir-637 como osterix y COL4A1 (colágeno tipo IV alfa 1). Es posible que miR-637 regule otras vías inflamatorias con el fin de disminuir los niveles de PCR en otras situaciones patológicas como en la hipertensión (62,63).

Finalmente, todos estos datos sugieren que los miARNs pueden ser importantes reguladores de la función vascular en enfermedades en humanos, en particular en la hipertensión, y al mismo tiempo pueden ser objetivos reales de tratamiento.

F.6. MiARNs en la angiogénesis vascular

La respuesta angiogénica a menudo está regulada por miARNs, pero su inducción también puede estar controlada por factores pro-angiogénicos, tales como VEGF y bFGF (factor básico de crecimiento de fibroblastos). En las CEs, Dicer, la endonucleasa responsable de la generación de miARNs, tiene un papel importante en la angiogénesis. Se ha comprobado que la disminución de los miARNs endoteliales por inactivación de Dicer provoca la disminución de la respuesta angiogénica postnatal a diferentes estímulos, incluyendo VEGF exógeno, cicatrización de heridas, isquemia de extremidades y tumores.

La regulación génica postranscripcional por miARNs es fundamental tanto en la homeostasis como en la enfermedad, así como en muchos aspectos del crecimiento. Estas demostrado que los miARNs regulan la formación de nuevos vasos sanguíneos en enfermedades como el cáncer y en las complicaciones de otras como la hipertensión. Curiosamente, la angiogénesis postnatal está regulada por miARNs endoteliales, y VEGF

induce la expresión de los miARNs implicados en el control de la respuesta angiogénica. Son varios los miARNs específicos involucrados en la angiogénesis que se han identificado recientemente. Estudios *in vivo* demuestran que miR-329 inhibe la expresión de CD146 en los vasos sanguíneos y atenúa la neovascularización (64).

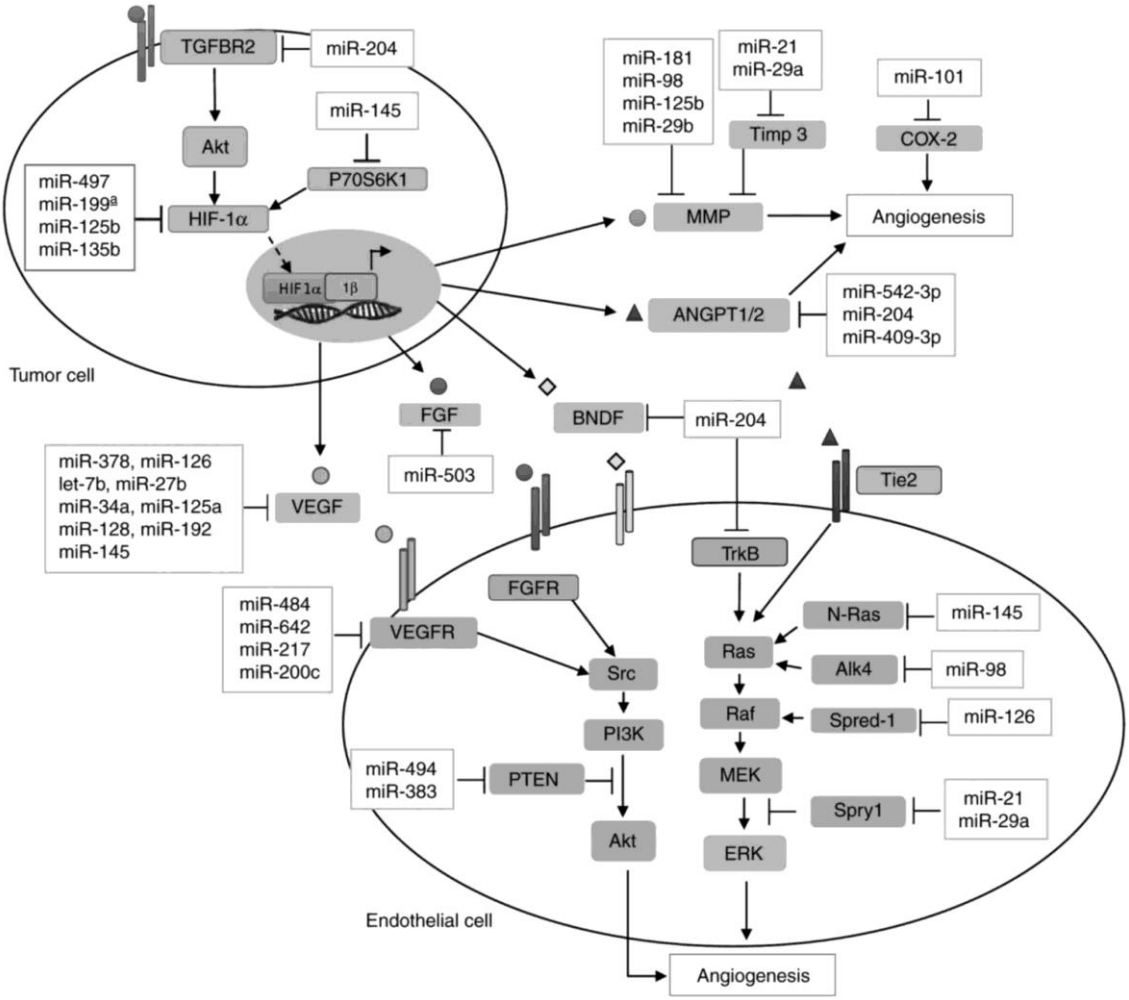

Figura 13. Compilación de los miRs capaces de promover o inhibir la angiogénesis (65).

También la regulación positiva dependiente de la hipoxia llevada a cabo por miR-24 modera la densidad capilar inhibiendo la expresión de GATA2 (un factor de transcripción específicamente expresado en el endotelio) y PAK4 (una quinasa activada por p21) en las CEs. La sobreexpresión de miR-217 en CEs jóvenes induce una angiogénesis deficiente y la inhibición de miR-217 mientras que en CEs antiguas provoca un aumento de la angiogénesis (66).

En HUVECs, CEs de aorta humana y CEs de arteria coronaria humana, miR-217 es capaz de inducir un fenotipo prematuro de senescencia y conduce a la alteración de la angiogénesis mediante la inhibición de SIRT1 y modulación de la acetilación de FoxO1 y NOSe. La disminución de la angiogénesis dentro de los microvasos (denominada rarefacción) genera la lesión en los órganos diana, se trata de un proceso que conlleva una gran patogenia y es muy frecuente que aparezca como complicación de la hipertensión. Recientemente, otro estudio *in vivo* ha demostrado que, en el ventrículo

derecho, la sobreexpresión de miR-126 mejora la densidad de los microvasos en la Hipertensión Arterial Pulmonar (67).

Se ha demostrado que la regulación a la baja de miR-126 aumenta moléculas relacionadas con la proteína Sprouty (Proteína involucrada en el desarrollo y señalización celular), proteína 1 que contiene el dominio EVH1 (Spread-1) y la subunidad reguladora 2 de fosfoinositol-quinasa 3 (PI3KR2), inactivando RAF y MAPK e inhibiendo la vía VEGF. Además, se ha encontrado que la inducción de miR-182 juega un papel importante en la respuesta hipertrófica inducida por la angiogénesis a través de la regulación negativa de Bcat2 (aminoácido de cadena ramificada transaminasa 2), Adcy6 (adenilato ciclasa 6), y FoxO3 (68).

El ejercicio físico promueve la revascularización periférica en la hipertensión mediante la regulación de varios miARNs. Por esto es importante conocer la relación entre el deporte y los miARNs para entender como el ejercicio físico modula el sistema cardiovascular a nivel génico. La rarefacción capilar amplifica la disfunción vascular en la hipertensión y dos de los miARNs más frecuentes, miR-16 y miR-21, ven sus niveles aumentados en esta enfermedad, mientras que sus dianas: VEGF y Bcl-2 están reducidos. Además, se ha visto mediante estudios experimentales que el entrenamiento físico provoca la disminución de la expresión de miR-16 y de miR-21 y aumenta la de miR-126, en relación con la revascularización en la hipertensión (69).

Se ha demostrado que el entrenamiento aeróbico induce un aumento de la expresión de miR-126, relacionada con la angiogénesis cardíaca inducida por el ejercicio, por regulación indirecta de la vía VEGF y por regulación directa de sus dianas que convergían en una activación de vías angiogénicas, como MAPK y PI3K / Akt / eNOS. Los niveles de miR-126 y miR-9 están significativamente disminuidos en pacientes hipertensos. Por otra parte, las mediciones ecocardiográficas mostraron que el índice de masa del ventrículo izquierdo parece tener una correlación positiva con miR-9. Estos hallazgos han sido comparados con los obtenidos en estudios con animales que indican que miR-9 es un regulador negativo de la hipertrofia cardíaca. El miR-9 suprime la expresión de miocardina, que es un mediador posterior del factor nuclear de las células T activadas c3 (NFATc3) en la cascada hipertrófica. Además, se ha descubierto que los niveles de miR-126 y miR-9 pueden relacionarse positivamente con la presión de pulso media durante 24 h y que puede predecir la lesión de órgano diana en la hipertensión. Además, se ha demostrado que se produce un aumento de la expresión de miR-505 en el paciente hipertenso. El objetivo directo de miR-505 es el factor de crecimiento de fibroblastos 18 (FGF18), un factor pro-angiogénico responsable de los efectos anti-angiogénicos de miR-505 (70, 71).

Estos prometedores estudios sugieren que el ajuste de la expresión y función de multitud de miARNs, mediante diferentes enfoques, pueden ser clave en la respuesta angiogénica en la hipertensión. Así, un nuevo método para el tratamiento de trastornos asociados con una angiogénesis patológica, como sucede en la hipertensión, podría estar basada en el antagonismo de los miARNs claves.

F.7. Los MiARNs como mediador en la comunicación intercelular

Existen importantes estudios que demuestran que los miARNs están presentes tanto en el espacio intracelular como en el extracelular, incluyendo plasma/suero, saliva y orina. Muchos miARNs circulantes en la sangre han sido identificados como biomarcadores para varios cánceres, ECV, lesión cerebral y lesión hepática. Estos miARNs detectados en la sangre, conocidos como "miARNs circulantes", pueden originarse a partir de células senescentes, como los cardiomiocitos necróticos después de un infarto de miocardio, o pueden ser liberados activamente por las células vivas, actuando como factores paracrinos. Actualmente aún no está completamente elucidado el mecanismo por el cual las células liberan miARNs al espacio extracelular. Es posible que algunos de los miARNs que transmiten Información específica para ser exportada o liberada estén mediados por estímulos biológicos. De esta manera, los miARNs llevan a cabo funciones fuera de la célula, formando parte de la comunicación intercelular (72).

El origen de los miARN circulantes aún no se conoce bien. Se cree que la mayoría de los miARNs proceden de células sanguíneas, y de órganos como el corazón, pulmón, hígado y riñón. Los miARNs se asocian a vesículas extracelulares (exosomas, microvesículas (MV) o micropartículas (MPs) y cuerpos apoptóticos, proteínas (AGO2) o a complejos de lipoproteínas (LDL, HDL) con el fin de protegerse contra la degradación de la ARNasa plasmática.

Los miARNs circulantes, previamente empaquetados en asociación con diferentes moléculas, son posteriormente transferidos a las células receptoras modificando su función. No todos los miARNs están cargados en vesículas extracelulares o complejos de lipoproteínas, si no que algunos de ellos se mantienen dentro de la célula. El paso clave de la comunicación intercelular es la exportación selectiva de un miARN preciso desde la célula donante a la receptora. El proceso de clasificación y exportación de miARNs es dependiente de ATP y responde a condiciones extracelulares. La exportación exosomal de miARNs podría depender de la vía de la ceramida y está vinculada directamente con los niveles de miARN intracelular. Además, el embalaje de miARN con su transportador específico puede estar condicionado por la enfermedad (73).

Se ha comprobado que los niveles de miARNs en micropartículas derivadas de plaquetas (PMPs) aisladas de sangre de pacientes con enfermedades crónicas como en la enfermedad coronaria o en el síndrome coronario agudo y los de los sujetos sanos son significativamente diferentes. Además, muchos estudios han concluido que los miARNs funcionales son transferidos por MVs a las células receptoras mediando en la comunicación célula-célula. La comunicación se facilita principalmente por el transporte intravesicular y extravesicular y en ocasiones por comunicación de miARNs por uniones GAP. Recientemente se ha descrito que en comparación con el transporte intercelular de miARN dependiente de MV (~0.7%), el Porcentaje de transporte intercelular de miARNs por uniones GAP es mucho mayor (74,75).

Se ha establecido el papel de miARNs tanto en comunicación local como sistémica, especialmente en el caso de adipocitos y células tumorales. Perfiles de miARNs

circulantes específicos se han descubierto en plasma de sujetos obesos, sugiriendo que algunos de estos miARNs pueden modular la respuesta metabólica sistémica. Más importante aún, con respecto al papel de los miARNs en la comunicación local, los estudios más recientes han revelado que las MVs derivadas de adipocitos contienen miARNs que son transportados en macrófagos.

Además, ha sido demostrado que los miARNs secretados por este tipo de MV pueden dirigirse hacia las células vecinas y realizan funciones reguladoras en ellas. Muchos miARNs juegan un papel importante en la regulación de la inflamación en el tejido adiposo. De hecho, simulando un estado inflamatorio mediante el tratamiento con lipopolisacáridos, se ve un patrón de expresión de miARNs alterado tanto en adipocitos como en macrófagos, en comparación con las condiciones basales. Los autores concluyen que conociendo los perfiles de miARN asociados con diferentes vías de activación de adipocitos y macrófagos se podría proporcionar un nuevo espectro de biomarcadores y nuevos enfoques terapéuticos para disminuir la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo de pacientes obesos y por consiguiente el estado inflamatorio asociado a la obesidad. Por ejemplo, variaciones que involucran a miR-221/222 y miR-155 pueden participar en la interrelación entre la inflamación, la resistencia a la insulina y otras morbilidades asociadas a la obesidad. Además, en muestras de tejido adiposo de sujetos obesos mórbidos obtenidas antes y después de la cirugía bariátrica, revelaron una reducción de la expresión de estos miARNs después de la pérdida de peso inducida por la cirugía, junto con la posterior mejora metabólica y disminución de la inflamación (76).

miARNs	Vías de señalización/Dianas	Papel de miARNs en la DE
miARNs y sistema renina-angiotensina-aldosterona		
↓ miR-181a-5p	↑ renina	Aumenta la PA en pacientes y ratones hipertensos
↓ miR-663	↑ renina	Aumenta la PA en pacientes hipertensos
↓ miR-143/145	↑ AT1R, ACE	Induce disfunción vascular en ratones con deficiencia de miR-143/145
↓ miR-145	↑ ACE, ERK1/2	Induce disfunción vascular en vasos sanguineos expuestos a elevadas fuerzas de estiramiento
↑ miR-29b	↑ Activación Gαq/11, ERK1/2	Aumenta la PA y la inflamación endotelial
↑ miR-129-3p		
↑ miR-212		
↓ miR-155-5p	↑ AT1R (AT1R-1166CC carrier state),ERK1/2	Induce hipertrofia vascular
	↑ ET-1, VCAM1	
	↑ MCP1, FLT-1	Provoca la migracion de celulas endoteliales en HUVECs
↓ miR-221/222	↑ ET-1, VCAM1	Provoca la migracion de celulas endoteliales en HUVECs
	↑ MCP1, FLT-1	
↓ miR-483-3p	↑ AT2R, AGT	Modula los componentes de RAS
	↑ ACE-1 ACE-2	
miARNs que modulan la liberacion de NO		
↑ miR-155	↓ eNOS	Hace que disminuya la liberacion de NO en HUVECs y la vasodilatación dependiente del endotelio
		Induce la adhesion leucocitaria y la inflamación vascular
↑ miR-122	↓ SLC7A1	Reduce liberación de NO e induce DE en pacientes hipertensos
	↓ L-arginine	
↑ miR-182	↓ Akt/mTORC	Interactua en la relación entre CEs y Cardiomiocitos
		Induce DE disminuyendo la liberación de NO
↑ miR-24	↓ Sp1, eNOS	Disminuye liberación de NO e induce proliferación endotelial
↑ miR-221/222	↓ eNOS	Disminuye liberación de NO y NOS3 en CEs
	↓ p21Cip1, p27Kip1	
	↓ Ets1, Ets2, STAT5a	
↑ miR-27b	↓ Hsp90-eNOS	Disminuye liberacion de NO e induce HTAP
	↓ PPARγ	
↑ miR-217	↓ eNOS	Disminuye liberación de NO en CEs de la Aorta Abdominal
↓ miR-146a	↑ TRAF6, HuR	Estimula la activación y disfunción de las CEs
↓ miR-146b	↓ eNOS	
miARNs que controlan el estrés oxidativo		
↑ miR-27a	↑ NF-κB pathway	Aumenta la producción de ROS e induce la DE
↑ mirR-27b		
↑ miR-29b		
↑ miR-24		
↑ miR-21	↑ NF-κB pathway	Aumenta la producción de ROS e induce la DE
		Aumenta la PA en pacientes y ratones hipertensos
↑ miR-1	↑ Cu/Zn , SOD1	Aumenta la producción de ROS e induce la DE
	↑ Gclc, G6PD	
↑ miR-200c	↑ p38α MAPK	Aumenta niveles de ROS en HUVECs
↑ miR-200a		Efectores de la respuesta oxidativa inducida por estrés en CEs
↑ miR-141		
↑ miR-217	↓ SIRT1, FoxO1	Incrementa ROS y contribuye al aneurisma en la aorta abdominal

miARNs en la inflamación vascular		
↓ miR-126	↑ VCAM-1	Incrementa la interacción leucocito-CE favoreciendo la activación endotelial y la inflamación
↓ miR17-3p	↑ ICAM-1	Favorece la adhesión leucocitaria a las CEs activadas
↓ miR-31	↑ E-selectin	Favorece la adhesión leucocitaria a las CEs activadas
↑ miR-181b	↓ importin-α3	Induce la inflamación en CEs tanto en modelos in vitro como in vivo
	↑ VCAM-1	
	↑ E-selectin	
↓ miR-146a	↑ TRAF6, HuR	Estimula la activación y disfunción de las CEs
↓ miR-146b	↑ NF-κB , MAPK, ↓ eNOS	
↓ miR-10a	↑ MAPK-7, β TRC	Promueve la activación de las CEs en el arco aórtico
	↑ NF-κB	
	↑ KLF2, KLF4	
↓ miR-92a	↑ KLF2, KLF4 9	Promueve la activación de las CEs en el arco aórtico
↓ miR-21	↑ Smad7, CTGF	Aumenta la presion diastólica y perjudica la relajación de la aorta dependiente del endotelio
	↑ MMP-2, MMP-10	
	↓ Smad2, Smad5	Disminuye el contenido de elastina y aumenta el grosor de la pared intima-media de la aorta torácica
	↓ tissue inhibitor of MMP-4	Modula la remodelación vascular en procesos de hipertensión y aterosclerosis
	↓ TGF-β1	
↓ miR-125a-5p	↑ ET-1	Promueve la inflamación endotelial y aterosclerosis en SHR
↑ miR-712/205	↓ Inhibidor tisular de MMP-3	Aumenta la permeabilidad vascular y contribuye a la inflamación endotelial
↑ miR-17/92	↓ BMPR2	Provoca inflamación endotelial en la HTAP idiopática
	↑ IL-6	
↑ miR-663	↑ ATF4, VEGF	Produce activación celular en HUVECs
↓ miR-637	↑ Osterix, COL4A1, ↑ CRP	Activa vias inflamatorias aumentando PCR
miARNs en la angiogenesis vascular		
↑ miR-329	↓ CD146	Atenua la neovascularización
↑ miR-24	↓ GATA2, PAK4	Disminuye la densidad capilar y atenua la angiogénesis
↑ miR-217	↓ SIRT1, FoxO1	Promueve un fenotipo de senescencia prematura en CEs y conduce a un deterioro en la angiogénesis
	↓ eNOS acetylation	
↓ miR-126	↑ SPRED-1, PI3KR2	Afecta la densidad de microvasos en la hipertensión arterial pulmonar.
	↓ RAF, MAPK	
	↓ VEGF	
	↓ PI3K/Akt/eNOS	
↑ miR-182	↓ Bcat2, Adcy6	Contribuye a la respuesta hipertrófica inducida por la angiogénesis.
	↓ FoxO3	
↑ miR-16	↓ VEGF, Bcl-2	Genera la rarefacción capilar y amplifica la disfunción vascular.
↑ miR-21		
↓ miR-9	↑ myocardin	Modula la hipertrofia cardiaca
	↑ NFATc3	
↑ miR-505	↓ FGF18	Reduce la angiogénesis en pacientes y animales hipertensos

Figura 14. Resumen final de los miARNs descubiertos hasta la fecha involucrados en la DE, explicando su diana y el papel que desempeña cada uno (26).

G. **CONCLUSIONES**

Conocer el papel del endotelio en el control de la función vascular, la inflamación, la trombosis y la proliferación celular es esencial, ya que es evidente que la disfunción de las células endoteliales implica la alteración de estas funciones. Existe una creciente evidencia en relación con la asociación entre disfunción endotelial y los miARNs, pero muchos de los mecanismos moleculares subyacentes son aún desconocidos. La idea de que los miARNs son reguladores críticos de la expresión génica puede ser una nueva esperanza para comprender la relación entre miARNs y enfermedad. En particular, los miARNs son importantes reguladores de la función vascular y la hipertensión, sirviendo, así como marcadores de diagnóstico, progresión y posibles dianas terapéuticas. El conocimiento de los miARNs por parte de la biología aún dista de estar completo, y la identificación de genes diana específicos de cada miARN en cada tipo de célula y órgano sigue siendo un gran desafío para entender el papel de estas pequeñas moléculas. El hecho de que determinados miARNs interactúen con componentes de la vía de regulación RAAS de manera específica, intervengan en la liberación de NO y en la producción de ROS, tengan un papel esencial en la respuesta inflamatoria, en la angiogénesis y en el control de la presión arterial e hipertensión, representa un hito importante en la investigación de la disfunción endotelial. En esta revisión hemos tratado de recopilar el conocimiento actual con el fin de comprender el papel principal de los miARNs en el control de la función de las células endoteliales y su participación en la regulación precisa de vías celulares como respuesta a diferentes estímulos fisiopatológicos.

Por todo ello, es necesario que se siga investigando acerca de los mecanismos e interacciones precisas acerca de la implicación de los miARNs en el desarrollo y progresión de enfermedades, para, en un futuro, poder desarrollar terapias basadas en estos pequeños ácidos ribonucleicos, ya no solo teniendo como objetivo la disfunción endotelial y las enfermedades cardiovasculares, si no muchos otros tipos de patologías, pudiendo aportar un nuevo abordaje terapéutico en el diagnóstico, pronóstico, seguimiento y tratamiento de enfermedades que actualmente no cuenten con tratamientos suficientemente eficaces o que, incluso, no tengan tratamiento.

H. BIBLIOGRAFÍA

(1) Badimón L, Martínez-González J. Disfunción endotelial. Revista Española de Cardiologia. 2006;6(Supl.A):21-30.

(2) Park K, Park W. Endothelial Dysfunction: Clinical Implications in Cardiovascular Disease and Therapeutic Approaches. Journal of Korean Medical Science. 2015;30(9):1213.

(3) Epstein S, Zhu J, Burnett M, Zhou Y, Vercellotti G, Hajjar D. Infection and Atherosclerosis. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2000;20(6):1417-1420.

(4) Cuevas A. Función endotelial y dietas mediterráneas. Medwave. 2003;3(1).

(5) Avogaro A, Kreutzenberg S, Fadini G. Endothelial dysfunction: Causes and consequences in patients with diabetes mellitus. Diabetes Research and Clinical Practice. 2008;82:S94-S101.

(6) Mudau M, Genis A, Lochner A, Strijdom H. Endothelial dysfunction: the early predictor of atherosclerosis. Cardiovascular Journal of Africa. 2012;23(4):222-231.

(7) Harrison D, Marvar P, Titze J. Vascular Inflammatory Cells in Hypertension. Frontiers in Physiology. 2012;3.

(8) Burke A, FitzGerald G. Oxidative stress and smoking-induced vascular injury. Progress in Cardiovascular Diseases. 2003;46(1):79-90.

(9) Brandes R, Fleming I, Busse R. Endothelial aging. Cardiovascular Research. 2005;66(2):286-294.

(10) Brewer, LC, Michos ED & Reis JP, "Vitamin D in Atherosclerosis, Vascular Disease, and Endothelial Function"; Current Drug Targets 2011; 12: 54-60.

(11) Anagnostis P, G. Athyros V, Adamidou F, Florentin M, Karagiannis A. Vitamin D and Cardiovascular Disease: A Novel Agent for Reducing Cardiovascular Risk?. Current Vascular Pharmacology. 2010;8(5):720-730.

(12) Stress Relationship And Disease Between [Internet]. Airfreshener.club. 2019 [cited 16 May 2019]. Available from: https://airfreshener.club/quotes/stress-relationship-and-disease-between.html

(13) Giner M., Montoya M.J., Vázquez M.A., Miranda C., Miranda M.J., Pérez-Cano R. ¿Qué son los microARNs?: posibles biomarcadores y dianas terapéuticas en la enfermedad osteoporótica. Rev Osteoporos Metab Miner [Internet]. 2016 Mar [citado 2019 Feb 25] ; 8(1): 40-44.

(14) What are microRNA's? - Integragen [Internet]. Integragen. 2019 [cited 15 May 2019]. Available from: https://www.integragen.com/mirpredx-31-3p-2/what-are-microrna s

(15) Bandrés, E. and García-Foncillas, J. (2009). Micro-ARN y Cáncer. 1st ed. [ebook] Pamplona: GH Continuada. Available at: http://aeeh.es/wp-content/uploads/2012/05/v8n5a566pdf001.pdf [Accessed 4 Feb. 2019].

(16) Bartel D. MicroRNAs. Cell. 2004;116(2):281-297.

(17) Lee R, Feinbaum R, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. Cell. 1993;75(5):843-854.

(18) Weiss C, Ito K. A Macro View of MicroRNAs: The Discovery of MicroRNAs and Their Role in Hematopoiesis and Hematologic Disease. MiRNAs in Aging and Cancer. 2017:99-175.
(19) Lu C. Elucidation of the Small RNA Component of the Transcriptome. Science. 2005;309(5740):1567-1569.
(20) Eulalio A, Huntzinger E, Izaurralde E. Getting to the Root of miRNA-Mediated Gene Silencing. Cell. 2008;132(1):9-14.
(21) Eulalio A, Rehwinkel J, Stricker M, Huntzinger E, Yang S, Doerks T et al. Target-specific requirements for enhancers of decapping in miRNA-mediated gene silencing. Genes & Development. 2007;21(20):2558-2570.
(22) Vasudevan S, Tong Y, Steitz J. Switching from Repression to Activation: MicroRNAs Can Up-Regulate Translation. Science. 2007;318(5858):1931-1934.
(23) اصول نام گذاری microRNA ها [Internet]. 2019. ژنتیک مولکولی کاربردی [cited 15 May 2019]. Available from: http://gene.blogfa.com/page/microrna
(24) Budak H, Bulut R, Kantar M, Alptekin B. MicroRNA nomenclature and the need for a revised naming prescription. Briefings in Functional Genomics. 2015;:elv026.
(25) Harris T, Yamakuchi M, Ferlito M, Mendell J, Lowenstein C. MicroRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2008;105(5):1516-1521.
(26) Vigorito E, Perks K, Abreu-Goodger C, Bunting S, Xiang Z, Kohlhaas S et al. microRNA-155 Regulates the Generation of Immunoglobulin Class-Switched Plasma Cells. Immunity. 2007;27(6):847-859.
(27) Johnnidis J, Harris M, Wheeler R, Stehling-Sun S, Lam M, Kirak O et al. Regulation of progenitor cell proliferation and granulocyte function by microRNA-223. Nature. 2008;451(7182):1125-1129.
(28) Rajgor D. Macro roles for microRNAs in neurodegenerative diseases. Non-coding RNA Research. 2018;3(3):154-159.
(29) Pauley K, Cha S, Chan E. MicroRNA in autoimmunity and autoimmune diseases. Journal of Autoimmunity. 2009;32(3-4):189-194.
(30) Chen X. MicroRNA signatures in liver diseases. World Journal of Gastroenterology. 2009;15(14):1665.
(31) Tüfekci K, Öner M, Meuwissen R, Genç Ş. The Role of MicroRNAs in Human Diseases. miRNomics: MicroRNA Biology and Computational Analysis. 2013;:33-50.
(32) Chien S. Mechanotransduction and endothelial cell homeostasis: the wisdom of the cell. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2007;292(3):H1209–24
(33) Kumar S, Kim CW, Simmons RD, Jo H. Role of flow-sensitive microRNAs in endothelial dysfunction and atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2014;34(10):2206–16.
(34) Zhao JL, Rao DS, Boldin MP, Taganov KD, O'Connell RM, Baltimore D. NF-kappaB dysregulation in microRNA-146adeficient mice drives the development of myeloid malignancies. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011;108:9184–9.

(35) Hergenreider E, Heydt S, Treguer K, Boettger T, Horrevoets AJ, ZeiherAM, et al. Atheroprotective communication between endothelial cells and smooth muscle cells through miRNAs. Nature Cell Biol. 2012;14:249-56
(36) ClimentM,Quintavalle M, Miragoli M, Chen J, Condorelli G, Elia L. TGFβ triggers miR-143/145 transfer from smooth muscle cells to endothelial cells, thereby modulating vessel stabilization. Circ Res. 2015;116:1753-64.
(37) Chamorro-Jorganes A, Araldi E, Suárez Y. MicroRNAs as pharmacological targets in endothelial cell function and dysfunction. Pharmacological Research. 2013;75:15-27.
(38) Simionescu N, Niculescu LS, Carnuta MG, Sanda GM, Stancu CS, Popescu AC, et al. Hyperglycemia determines increased specific micrornas levels in sera and HDL of acute coronary syndrome patients and stimulates micrornas production in human macrophages. PLoS One. 2016;11(8):e0161201
(39) Zile MR, Mehurg SM, Arroyo JE, Stroud RE, DeSantis SM, Spinale FG. relationship between the temporal profile of plasma microRNA and left ventricular remodeling in patients following myocardial infarction. Circ Cardiovasc Genet. 2011;4(6):614–9.
(40) Marques F, Romaine S, Denniff M, Eales J, Dormer J, Garrelds I et al. Signatures of miR-181a on the Renal Transcriptome and Blood Pressure. Molecular Medicine. 2015;21(1):739-748.
(41) Kohlstedt K, Trouvain C, Boettger T, Shi L, Fisslthaler B, FlemingI. AMP-activated protein kinase regulates endothelial cell angiotensin-converting enzyme expression via p53 and the posttranscriptional regulation of microRNA-143/145. Circ Res. 2013;112(8):1150–8.
(42) Jeppesen PL, Christensen GL, Schneider M, Nossent AY, Jensen HB, Andersen DC, et al. Angiotensin II type 1 receptor signaling regulates microRNA differentially in cardiac fibroblasts and myocytes. Br J Pharmacol. 2011;164(2):394–404.
(43) Zhu N, Zhang D, Chen S, Liu X, Lin L, Huang X, et al. Endothelial enriched microRNAs regulate angiotensin Iinduced endothelial inflammation and migration. Atherosclerosis. 2011;215(2):286–93.
(44) Pacurari M, Tchounwou P. Role of MicroRNAs in Renin-Angiotensin-Aldosterone System-Mediated Cardiovascular Inflammation and Remodeling. International Journal of Inflammation. 2015;2015:1-7.
(45) Sun HX, Zeng DY, Li RT, Pang RP, Yang H, Hu YL, et al. Essential role of microRNA-155 in regulating endothelium dependent vasorelaxation by targeting endothelial nitric oxide synthase. Hypertension. 2012;60(6):1407–14.
(46) Chen LJ, Xu R, Yu HM, Chang Q, Zhong JC. The ACE2/apelin signaling, microRNAs, and hypertension. Int J Hypertens. 2015;2015:896861
(47) Yang Z, Venardos K, Jones E, Morris BJ, Chin-Dusting J. Identification of a novel polymorphism in the 3'UTR of the Larginine transporter gene SLC7A1: contribution to hypertension and endothelial dysfunction. Circulation. 2007;115(10):1269–74.

(48) Sun HX, Zeng DY, Li RT, Pang RP, Yang H, Hu YL, et al. Essential role of microRNA-155 in regulating endotheliumdependent vasorelaxation by targeting endothelial nitric oxide synthase. Hypertension. 2012;60(6):1407–14.
(49) Chistiakov DA, Sobenin IA, Orekhov AN, Bobryshev YV. Human miR-221/222 in physiological and atherosclerotic vascular remodeling. Biomed Res Int. 2015;2015:354517.
(50) Cerda A, Fajardo CM, Basso RG, Hirata MH, Hirata RD. Role of microRNAs 221/222 on statin induced nitric oxide release in human endothelial cells. Arq Bras Cardiol. 2015;104(3):195–201.
(51) Wang L, Yuan Y, Li J, Ren H, Cai Q, Chen X, et al. MicroRNA-1 aggravates cardiac oxidative stress by post-transcriptional modification of the antioxidant network. Cell Stress and Chaperones. 2015;20(3):411.
(52) Magenta A, Ciarapica R, Capogrossi M. The Emerging Role of miR-200 Family in Cardiovascular Diseases. Circulation Research. 2017;120(9):1399-1402.
(53) Hui L, Bakiri L, Mairhorfer A, Schweifer N, Haslinger C, Kenner L, et al. p38alpha suppresses normal and cancer cell proliferation by antagonizing the JNK-c-Jun pathway. Nat Genet. 2007;39(6):741–9.
(54) Hulsmans M, Holvoet P. The vicious circle between oxidative stress and inflammation in atherosclerosis. J Cell Mol Med. 2010;14(1-2):70–8.
(55) LiH, 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.
(56) Yasunari K, Maeda K, Nakamura M, Yoshikawa J. Oxidative stress in leukocytes is a possible link between blood pressure, blood glucose, and C-reacting protein. Hypertension. 2002;39(3):777–80.
(57) Harris TA, Yamakuchi M, Ferlito M, Mendell JT, Lowenstein CJ. MicroRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008;105(5): 1516–21
(58) Harris TA, Yamakuchi M, Kondo M, Oettgen P, Lowenstein CJ. Ets-1 and Ets-2 regulate the expression of microRNA-126 in endothelial cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2010;30(10): 1990–7.
(59) Chiu JJ, Lee PL, Chen CN, Lee CI, Chang SF, Chen LJ, Lien SC, Ko YC, Usami S, Chien S. Shear stress increases icam-1 and decreases vcam-1 and e-selectin expressions induced by tumor necrosis factor-[alpha] in endothelial cells. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. 2004;24:73–79
(60) Cheng HS, Sivachandran N, Lau A, Boudreau E, Zhao JL, Baltimore D, et al. MicroRNA-146 represses endothelial activation by inhibiting pro-inflammatory pathways. EMBO Mol Med. 2013;5(7):1017–34.
(61) Zhang XY, Shen BR, Zhang YC,Wan XJ, Yao QP, Wu GL, et al. Induction of thoracic aortic remodeling by endothelial-specific deletion of microRNA-21 in mice. PLoS One. 2013;8(3): e59002.
(62) Soubrier F, Chung WK, Machado R, Grünig E, Aldred M, Geraci M, et al. Genetics and genomics of pulmonary arterial hypertension. Turk Kardiyol Dern Ars. 2014;42(1):17–28.

(63) Zhang JF, Fu WM, He ML, Wang H, Wang WM, Yu SC, et al. miR-637 maintains the balance between adipocytes and osteoblasts by directly targeting Os- terix. Mol Biol Cell. 2011;22(21):3955–61
(64) Wang P, Luo Y, Duan H, Xing S, Zhang J, Lu D, et al.MicroRNA 329 suppresses angiogenesis by targeting cd146. Mol Cell Biol. 2013;33(18):3689–99.
(65) Salinas-Vera Y, Marchat L, Gallardo-Rincón D, Ruiz-García E, Astudillo-De La Vega H, Echavarria-Zepeda R et al. AngiomiRs: MicroRNAs driving angiogenesis in cancer (Review). International Journal of Molecular Medicine. 2018;.
(66) Fiedler J, Jazbutyte V, Kirchmaier BC, Gupta SK, Lorenzen J, Hartmann D, et al. MicroRNA-24 regulates vascularity after myocardial infarction. Circulation. 2011;124(6):720–30.
(67) Potus F, Ruffenach G, Dahou A, Thebault C, Breuils-Bonnet S, Tremblay È, et al. Downregulation of mir-126 contributes to the failing right ventricle in pulmonary arterial hypertension circulation.
(68) Kontaraki JE, MarketouME, Zacharis EA, Parthenakis FI, Vardas PE. MicroRNA-9 and microRNA-126 expression levels in patients with essential hypertension: potential markers of targetorgan damage. J American Soc Hypertens JASH. 2014;8(6): 368–75.
(69) Fernandes T, Magalhães FC, Roque FR, Phillips MI, Oliviera EM. Exercise training prevents the microvascular rarefaction in hypertension balancing angiogenic and apoptotic role of microRNAs- 16, -21 and -126. Hypertension. 2012;59(2):513–20.
(70) das Neves VJ, Fernandes T, Roque FR, Soci UP, Melo S, de Oliveira EM. Exercise training in hypertension: role of microRNAs. World J Cardiol. 2014;6(8):713–27.
(71) Silva DA, Jr ND, Fernandes T, Soci UP, Monteiro AW, Phillips MI, et al. Swimming training in rats increases cardiac MicroRNA- 126 expression and angiogenesis. Med Sci Sports Exerc. 2012;44(8):1453–62.
(72) Gupta SK, Bang C, Thum T. Circulating microRNAs as biomarkers and potential paracrine mediators of cardiovascular disease. Circ Cardiovasc Genet. 2010;3(5):484–8.
(73) Kosaka N, Iguchi H, Yoshioka Y, Takeshita F, Matsuki Y, Ochiya T. Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells. J Biol Chem. 2010;285(23):17442–52.
(74) Diehl P, Fricke A, Sander L, Stamm J, Bassler N, Htun N, et al. Microparticles: major transport vehicles for distinct microRNAs in circulation. Cardiovasc Res. 2012;93(4):633–44.
(75) Zhang Y, Liu D, Chen X, Li J, Li L, Bian Z, et al. Secreted monocytic miR-150 enhances targeted endothelial cell migration. Mol Cell. 2010;39(1):133–44.
(76) Ortega FJ, Moreno M, Mercader JM, Moreno-Navarrete JM, Fuentes-Batllevell N, Sabater M, et al. Inflammation triggers specific microRNA profiles in human adipocytes and macrophages and in their supernatants. Clinical. 2015;7:49.