

Universidad de Sevilla
Facultad de Medicina. Departamento de Cirugía

**CARACTERIZACIÓN DE LOS MICRORNAS
IMPLICADOS EN EL INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO
SOMETIDO A ANGIOPLASTIA PRIMARIA**

Tesis Doctoral presentada por **D. Agustín Guisado Rasco**,
Licenciado en Medicina y Cirugía, para optar al grado de Doctor por
la Universidad de Sevilla.

DIRECTOR
Dr. D. José Antonio Ordóñez Fernández

AGRADECIMIENTOS

Al profesor Dr. José Antonio Ordóñez Fernández, Catedrático de Cirugía de la Universidad de Sevilla e Investigador Responsable del grupo de Patología Cardiovascular del Instituto de Biomedicina de Sevilla, por la dirección de esta tesis y por transmitirme siempre su apoyo, ánimo y conocimientos para su conclusión.

A Nacho Díaz Carrasco, Licenciado en Biología, por su colaboración con el análisis de las muestras y su ayuda en el análisis de los datos, así como al resto del grupo de Patología Cardiovascular del Instituto de Biomedicina de Sevilla.

A mis compañeros de la Unidad de Hemodinámica del Hospital Virgen del Rocío y a los del Servicio de Cardiología del Hospital Clínico de Málaga, por ayudarme a reclutar los pacientes para el estudio.

A los Dres. José Eduardo López Haldón y José Ángel Urbano Moral, de la Unidad de Imagen del Servicio de Cardiología del Hospital Virgen del Rocío por la realización de los ecocardiogramas del estudio.

A las Dras. María Pilar Serrano Gotarredona y Silvia Navarro Herrero, del Servicio de Radiodiagnóstico del Hospital Virgen del Rocío, por su colaboración realizando las resonancias cardíacas.

A mi familia

por ser lo mejor que la vida me ha regalado

por apoyarme y estar siempre conmigo

y por todos los momentos que les he robado

para la realización de este trabajo

ABREVIATURAS

AAS	Ácido acetil-salicílico
ACD	Arteria coronaria derecha
ACX	Arteria circunfleja
ADA	Arteria descendente anterior
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
AP-1	activador de proteína 1
ARA-2	Antagonista de los receptores de angiotensina II
AT-1R	Receptor de angiotensina II tipo 1
ATP	Adenosín trifosfato
AUC	Área bajo la curva
AVAD	Años de vida ajustados por discapacidad
AVD	Años de vida perdidos por discapacidad o mala salud
AVP	Años de vida perdidos por mortalidad prematura
cDNA	Ácido desoxirribonucleico complementario
CPK	Creatin-fosfocinasa
DI-DO	Tiempo puerta-aguja
DM	Diabetes mellitus
FEVI	Fracción de eyección del ventrículo izquierdo
FMCTB	Tiempo desde el primer contacto medico al inflado del balón
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HTA	Hipertensión arterial
IAM	Infarto agudo de miocardio
IAMCEST	Infarto agudo de miocardio con elevación del ST
IBIS	Instituto de Biomedicina de Sevilla
IC	Insuficiencia cardíaca
ICP	Intervencionismo coronario percutáneo
IECA	Inhibidor de la enzima conversora de angiotensina
IL	Interleucina
MAPK	Proteína-cinasa activada por mitógenos
miR	MicroRNA
miRNA	MicroRNA
MMPS	Metaloproteinasas de matriz

MPTP	Mitochondrial permeability transition pore
mRNA	Ácido ribonucleico mensajero
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (reducida)
NF-Kb	Factor nuclear kappa B
NT-pro-BNP	Propéptido natriurético cerebral amino-terminal
PI3K	Fosfoinositol 3-cinasa
PMC	Primer contacto médico
qRT-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa
RNA	Ácido ribonucleico
RNM	Resonancia nuclear magnética
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SC	Superficie corporal
SCA	Síndrome coronario agudo
SCACEST	Síndrome coronario agudo sin elevación del ST
SD	Desviación estándar
STAT	Transductores de señales y activadores de la transcripción
TAC	Tomografía axial computarizada
TCI	Tronco coronario izquierdo
TGF	Factor de crecimiento transformante
TIMI	Thrombolysis in myocardial infarction
TIMPS	Inhibidores de las metaloproteinasas de matriz
Tn	Troponina
VI	Ventrículo izquierdo
VTDVI	Volumen telediastólico del ventrículo izquierdo
VTSVI	Volumen telesistólico del ventrículo izquierdo

INDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	11
1.1. Epidemiología de la cardiopatía isquémica en España.....	12
1.2. Arterias coronarias.....	15
1.2.1. Circulación coronaria.....	15
1.2.2. Asociación de territorios y vasos coronarios.....	17
1.3. Síndrome coronario agudo.....	19
1.3.1. Introducción.....	19
1.3.2. Clasificación.....	19
1.3.3. Síndrome coronario agudo con elevación del ST.....	20
1.3.2.1. Anatomía patológica.....	20
1.3.2.2. Consecuencias clínicas.....	23
1.3.2.3. Tratamiento del síndrome coronario agudo con elevación del ST.....	24
1.4. Isquemia-reperfusión en la cardiopatía isquémica.....	30
1.4.1. Introducción.....	30
1.4.2. Fisiopatología.....	31
1.4.3. Ensayos con fármacos cardioprotectores.....	35
1.5. Remodelado ventricular.....	37
1.5.1. Introducción.....	37
1.5.2. Fisiopatología.....	38
1.5.3. Valoración clínica del remodelado ventricular.....	43
1.5.3.1. Ecocardiograma.....	43
1.5.3.2. Resonancia nuclear magnética.....	46
1.5.4. Tratamientos para prevenir el remodelado ventricular.....	50
1.5.4.1. Sobre el sistema renina-angiotensina-aldosterona.....	50
1.5.4.2. Betabloqueantes.....	51
1.5.4.3. Estrategias antiinflamatorias.....	51
1.6. Micro-RNAs en las enfermedades cardiovasculares.....	52
1.6.1. Biología de los micro-RNAs.....	52
1.6.2. Micro-RNAs como biomarcadores.....	54
1.6.3. Perspectivas terapéuticas de los micro-RNAs.....	56
1.6.4. Micro-RNAs en el infarto agudo de miocardio.....	57
1.6.4.1. Micro-RNAs como marcadores en IAM.....	57
1.6.4.2. Experimentos con micro-RNAs.....	59
2. HIPÓTESIS.....	60
3. OBJETIVOS.....	64

4. METODOLOGÍA.....	66
4.1. Protocolo de estudio.....	67
4.2. Técnicas de biología molecular para la determinación de micro-RNAs.....	71
4.3. Análisis de datos.....	73
5. RESULTADOS.....	75
5.1. Características demográficas y variables clínicas.....	76
5.2. Análisis de micro-RNAs frente a controles.....	78
5.3. Curvas de liberación de micro-RNAs.....	80
6. DISCUSION.....	144
7. CONCLUSIONES.....	171
8. BIBLIOGRAFIA.....	173

1. INTRODUCCIÓN

1.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA CARDIOPATÍA ISQUÉMICA EN ESPAÑA⁽¹⁾

En nuestro país, las enfermedades cardiovasculares constituyen uno de los problemas de salud más importantes para la población. Las enfermedades cardiovasculares constituyen la primera causa de muerte para el conjunto de la población española. En 2007 causaron 124.126 muertes (56.998 en varones y 67.128 en mujeres), lo que supone el 32,21% de todas las defunciones (28,33% en varones y 36,43% en mujeres), con una tasa bruta de mortalidad de 276 por 100.000 habitantes (257 en varones y 295 en mujeres).

La mayoría de las muertes evitables se deben a enfermedades coronarias, y se producen en el medio extrahospitalario.

Durante el año 2007 la enfermedad isquémica del corazón produjo 37.222 muertes, lo que supone un 9,65% de todas las defunciones, de las cuales 15.974 ocurrieron en mujeres (8,67%) y 21.248 en varones (10,56%). Actualmente en España la enfermedad isquémica del corazón ocasiona el mayor número de muertes cardiovasculares (29,98% del total, un 37,28% en varones y un 23,79% en mujeres). Dentro de la enfermedad isquémica del corazón, el infarto agudo de miocardio es la causa más frecuente con un 48,01%.

La tasa de morbilidad hospitalaria de la enfermedad isquémica del corazón fue de 317 por 100.000 habitantes (447 en varones y 189 en mujeres), siendo mucho más frecuente la rúbrica de otras formas de la enfermedad isquémica cardíaca (165 por 100.000 habitantes) que el infarto agudo de miocardio (122 por 100.000 habitantes).

Por otro lado, la causa principal de hospitalización por enfermedades cardiovasculares en ambos sexos corresponde al resto de enfermedades cardiovasculares, que en muchos casos cursan con insuficiencia cardíaca. Este síndrome es la primera causa de hospitalización en los mayores de 65 años. Todo ello ilustra el enorme impacto asistencial hospitalario de las enfermedades cardiovasculares en España. Además la mortalidad por infarto agudo de miocardio (IAM) es mayor en el ámbito extrahospitalario que en los pacientes ya ingresados. De hecho, muchas muertes por IAM se producen entre los pacientes antes de que lleguen al hospital.

Los estudios de carga de enfermedad tienen como objetivo medir y comparar las pérdidas en salud de las poblaciones como causa de las distintas enfermedades y factores de riesgo, considerando sus consecuencias mortales y no mortales, a través del indicador sintético Años de Vida Ajustados por Discapacidad – AVAD.

En España, las enfermedades cardiovasculares suponen la tercera causa de carga de enfermedad (12,5% del total de AVAD), con un componente importante de mortalidad. De los casi 602 mil AVAD que se perdieron en 2006 por enfermedades cardiovasculares, el 84% lo son por años de vida perdidos por mortalidad prematura (AVP) y el 16% por años vividos con discapacidad o mala salud (AVD). Dentro de este grupo de enfermedades, destaca la cardiopatía isquémica como principal causa en pérdida de AVAD con cerca de 227 mil (4,5% sobre el total de AVAD y 38% sobre el total de la carga por enfermedades circulatorias), siendo la tercera causa de carga de enfermedad en la población.

De cada 100 AVAD perdidos por cardiopatía isquémica, un 86% lo son por mortalidad prematura AVP y un 14% lo son por discapacidad o mala salud (AVD).

1.2. CIRCULACION CORONARIA

1.2.1. Anatomía coronaria.

Las Arterias coronarias son las primeras ramas de la aorta y se encargan de la irrigación del corazón ⁽²⁾.

Las arterias coronarias derecha e izquierda surgen de los senos aórticos justo por encima de la válvula aórtica y lanzan ramas que irrigan ambas aurículas y ventrículos. La dominancia es un concepto que depende de la arteria desde la que se origine la rama descendente posterior. Se habla de dominancia derecha, si la aporta la coronaria derecha (80 % de los casos), izquierda o codominancia.

La arteria coronaria derecha tiene su origen en el seno coronario derecho de la aorta ascendente. Discurre hacia abajo por el surco atrio-ventricular (surco coronario del corazón) hacia la cruz del corazón, donde se bifurca en los casos de dominancia derecha en interventricular posterior y ramo póstero-lateral.

En el 50-60 % de los casos su primera rama es la arteria conal, que irriga el tracto de salida del ventrículo derecho y forma una anastomosis colateral con una rama análoga procedente de la arteria descendente anterior (anillo de Vieussens). Posteriormente la arteria coronaria derecha aporta ramos marginales que irrigan el resto de la pared libre del ventrículo derecho. En el 70 % de los casos aporta finalmente la rama descendente posterior y las póstero-laterales distales.

La arteria coronaria izquierda nace del seno aórtico izquierdo. Tras un corto recorrido de 1-25 mm (tronco coronario izquierdo) se bifurca en arteria

descendente anterior y arteria circunfleja; en ocasiones hay un tercer ramo entre ellas (bisectriz o intermedio).

La arteria descendente anterior desciende por el surco interventricular anterior hasta el vértice del corazón donde comúnmente gira y se anastomosa con la descendente posterior; sus ramas son las septales y diagonales.

La arteria circunfleja sigue el surco coronario hacia la superficie posterior del corazón terminando poco después de llegar a la cruz. En su recorrido aporta ramos marginales que se encargan de irrigar el ventrículo izquierdo. Aporta la rama para el nodo sinusal en un 40 % de los casos y, en función de la dominancia, ramos póstero-laterales y la rama interventricular posterior.

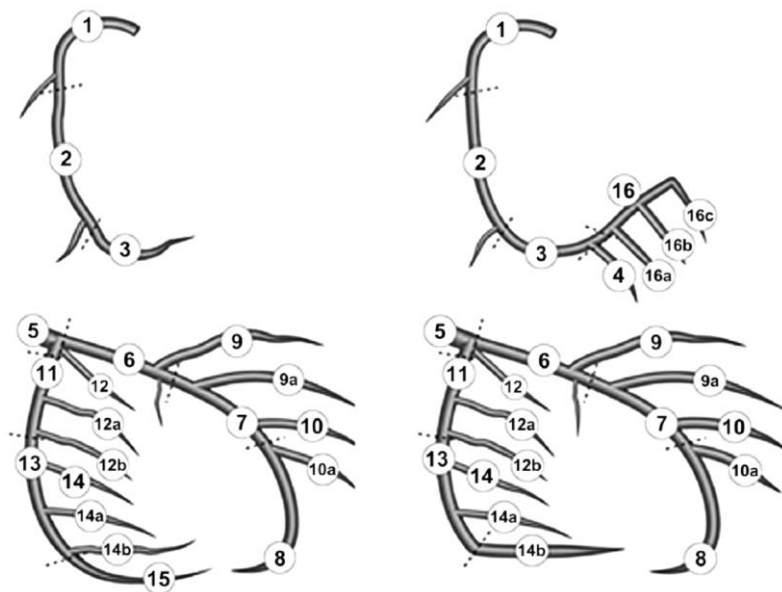


Figura 1. Anatomía coronaria. Tomado de (3).

A la izquierda, dominancia izquierda. A la derecha, dominancia derecha. 1. Arteria coronaria derecha (ACD) proximal. 2. ACD media. 3. ACD distal. 4. Arteria descendente posterior. 5. Tronco coronario izquierdo (TCI). 6. Arteria descendente anterior (ADA) proximal. 7. ADA media. 8. ADA distal. 9 y 9a. Primera diagonal. 10 y 10a. Segunda diagonal. 11. Arteria circunfleja (ACX) proximal. 12. Ramo bisectriz. 12a y 12b. Ramos marginales. 13. ACX distal. 14, 14a y 14b. Ramos póstero-laterales. 15. Descendente posterior. 16, 16a, 16b y 16c. Ramos póstero-laterales.

1.2.2. Asociación de territorios y vasos coronarios ⁽⁴⁾.

Es importante tener presente que hay variaciones individuales en la distribución de las arterias coronarias epicárdicas de forma que, aunque se asignan genéricamente territorios (o segmentos) a vasos coronarios, hay grandes variaciones individuales.

La arteria descendente anterior irriga la pared anterior, el septo y el ápex. La región inferior distal y la porción inferior del septo pueden estar irrigadas por la arteria descendente anterior, cuando ésta es importante, o bien por la descendente posterior, arteria que puede provenir de la circunfleja o de la coronaria derecha. En el 85% de la población, la coronaria derecha es dominante y da lugar a la descendente posterior, que irriga la pared inferior del corazón y la región inferior y basal del septo. En el 15% restante, la descendente posterior proviene de la arteria circunfleja. Cuando la coronaria derecha es dominante, la circunfleja irriga las porciones basales de la cara lateral e inferior; la pared lateral es irrigada por las ramas marginales de esta arteria. Cuando la circunfleja es dominante puede afectar a la mitad ínfero-lateral y antero-lateral del ventrículo izquierdo.

En general, pues, la pared anterior y el septo son zonas irrigadas por la descendente anterior y la pared lateral por la circunfleja, pero la cara inferior del corazón puede estar irrigada por la coronaria derecha o la circunfleja. Por otra parte, los defectos del ápex pueden corresponder a cualquiera de las arterias, pero se asignan preferentemente a la arteria descendente anterior.

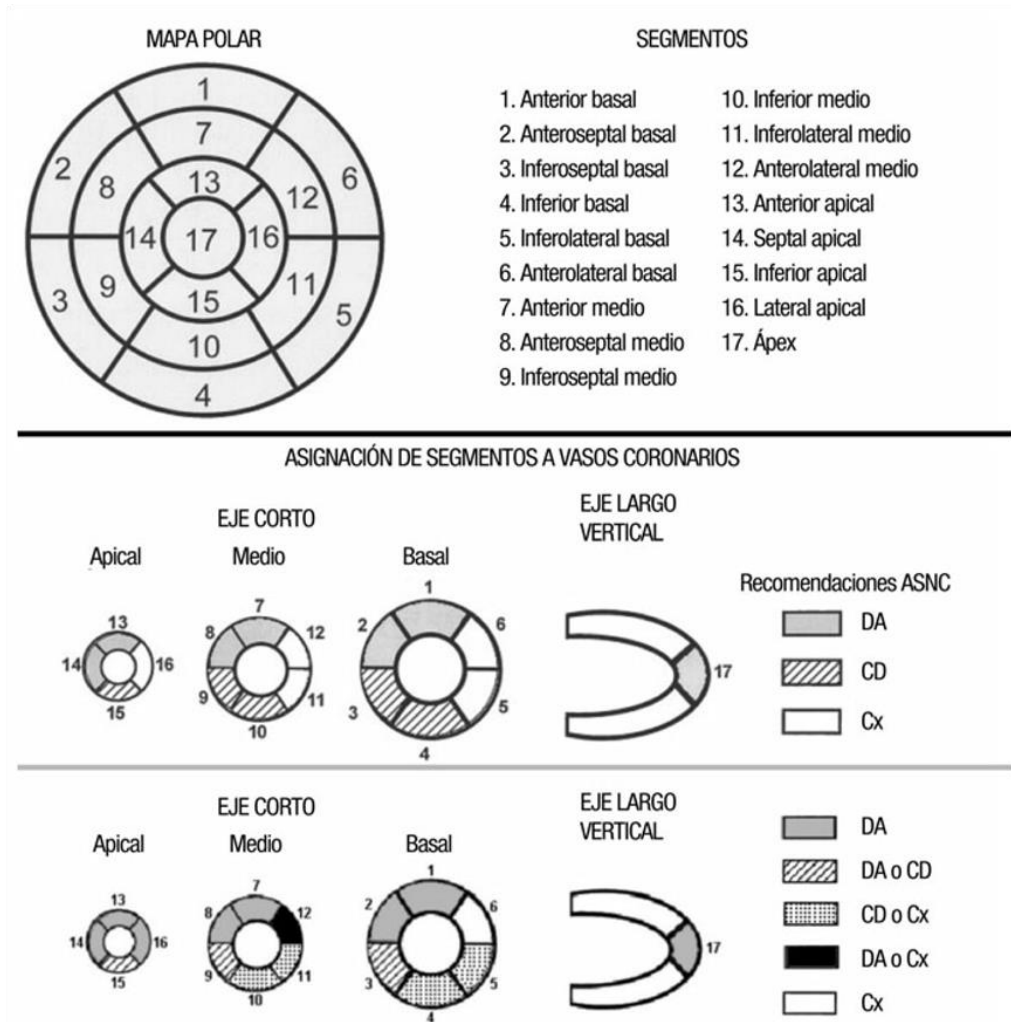


Figura 2. Asociación entre segmentos coronarios y arterias coronarias. Tomado de (4).

1.3. 1.3. SÍNDROME CORONARIO AGUDO

1.3.1. Introducción

El síndrome coronario agudo supone un espectro de manifestaciones clínicas de la enfermedad coronaria aguda que incluye la angina inestable, el infarto agudo de miocardio y la muerte súbita. La trombosis arterial coronaria es el mecanismo patogénico final de la mayoría de casos con síndrome coronario agudo, como muestran los estudios tanto angiográficos como de anatomía patológica. La formación de un trombo intraluminal suele deberse a la pérdida de integridad de la pared del vaso por rotura o por erosión de una placa de ateroma subyacente. Este proceso pone a la sangre en contacto con el contenido altamente trombogénico del core necrótico de la placa de ateroma, produciendo la trombosis luminal ⁽⁵⁾.

Esta trombosis da lugar a una reducción abrupta de la luz arterial coronaria, que da lugar a la clínica del síndrome coronario agudo.

1.3.2. Clasificación ⁽⁶⁾.

El síndrome coronario agudo se clasifica en función del electrocardiograma realizado durante su evaluación urgente en dos grandes grupos:

- Síndrome coronario agudo con elevación persistente del segmento ST. Cuando el trombo es totalmente oclusivo provoca isquemia y lesión que afecta a la totalidad o casi totalidad del espesor miocárdico irrigado por la arteria

coronaria afectada y produce típicamente una elevación del ST en el electrocardiograma. En caso de no restaurarse el flujo se produce finalmente la necrosis del tejido afectado, con aparición de ondas Q en el electrocardiograma de superficie (infarto con onda Q)

- Síndrome coronario agudo sin elevación persistente del segmento ST. Se produce cuando la oclusión no es completa o es transitoria. En función de que se produzca o no daño miocárdico detectable mediante los test de laboratorio habituales se clasifica a su vez en angina inestable (sin daño miocárdico) o infarto sin elevación del ST (con daño miocárdico), que suele dar lugar a un infarto sin onda Q.

1.3.3. Síndrome coronario agudo con elevación del ST

1.3.3.1. Anatomía patológica.

Tras la oclusión de una arteria coronaria se produce una serie de procesos cuyo resultado final dependerá de la arteria que se haya ocluido, la presencia o no de circulación colateral y el tiempo que transcurra hasta que se reestablezca el flujo.

Los primeros cambios que se observan por microscopia electrónica se producen tras 20 minutos de oclusión del vaso, y consisten en reducción del tamaño y número de los gránulos de glucógeno, edema intracelular y tumefacción con distorsión del sistema reticular transversal, retículo sarcoplásmico y mitocondrias; son cambios reversibles.

Tras 60 minutos de oclusión se puede observar edema de las células miocárdicas y de las mitocondrias, alteración interna de las mitocondrias y agregación y marginación de la cromatina nuclear.

Entre los 20 y los 120 minutos los cambios en algunas células ya son irreversibles. Se produce pérdida de nitidez de las uniones firmes en los discos intercalados, edema en la banda A de los sacos del retículo endoplásmico, mayor dilatación de las mitocondrias, adelgazamiento y fraccionamiento de los miofilamentos, desaparición de la heterocromatina, rarefacción de la eucromatina y agregación periférica de la cromatina en el núcleo, con desorientación de las miofibrillas y aglutinación de las mitocondrias.

Con microscopia óptica ya a las 1-3 horas se pueden ver algunas fibras miocárdicas onduladas, se cree que por estiramiento y torsión de fibras no contráctiles.

Tras 8 horas se observa edema intersticial, aumento de depósitos grasos en las células musculares e infiltrado de neutrófilos y hematíes. Los núcleos celulares se vuelven picnóticos para luego presentar cariólisis y los vasos sanguíneos pequeños presentan necrosis.

En los siguientes días se mantiene la necrosis por coagulación con pérdida de núcleos y estriaciones, así como la presencia de infiltrado de neutrófilos, para de forma progresiva producirse la desintegración de las miofibras y la fagocitosis por los macrófagos, siendo sustituida en las siguientes semanas por tejido de granulación prominente con neovascularización y reacción fibrovascular ⁽⁶⁾. Figura 3.

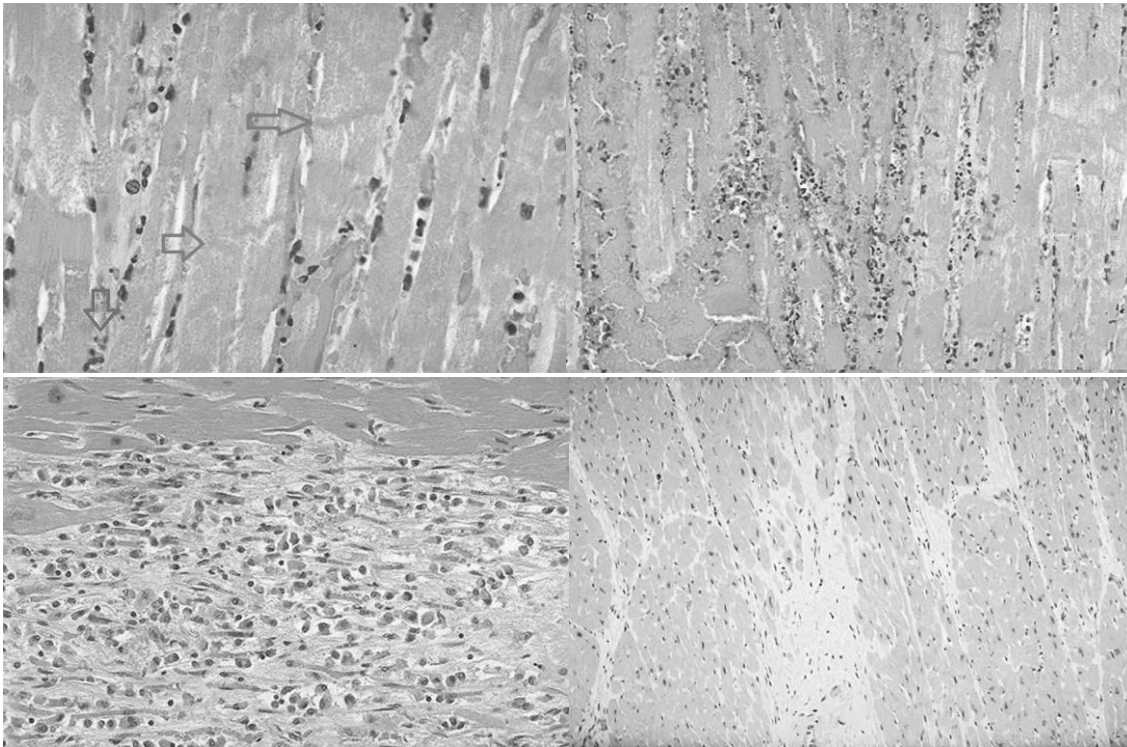


Figura 3. Evolución histológica del infarto agudo de miocardio.

Arriba izquierda. IAM de 1-2 días de evolución. Se observa una pérdida de estriaciones transversales y bandas de contracción irregulares y onduladas (flechas horizontales), así como algunos neutrófilos comenzando a infiltrar el miocardio necrótico (flecha vertical).

Arriba derecha. IAM de 3-4 días de evolución. Inflamación aguda extensa con neutrófilos que infiltran estas fibras miocárdicas en proceso de necrosis de coagulación.

Abajo izquierda. Hacia el final de la primera semana la cicatrización se hace más prominente con numerosos capilares, fibroblastos y macrófagos cargados de hemosiderina.

Abajo derecha. Transcurridas 2 o 3 semanas la cicatrización de la zona de necrosis miocárdica se encuentra bien avanzada y el depósito de colágeno es más extenso.

Tomado de ^(7,8).

Durante las primeras 12 horas, el porcentaje de miocardio isquémico progresivamente recuperable se reduce de forma progresiva, como se observa en la figura 4.

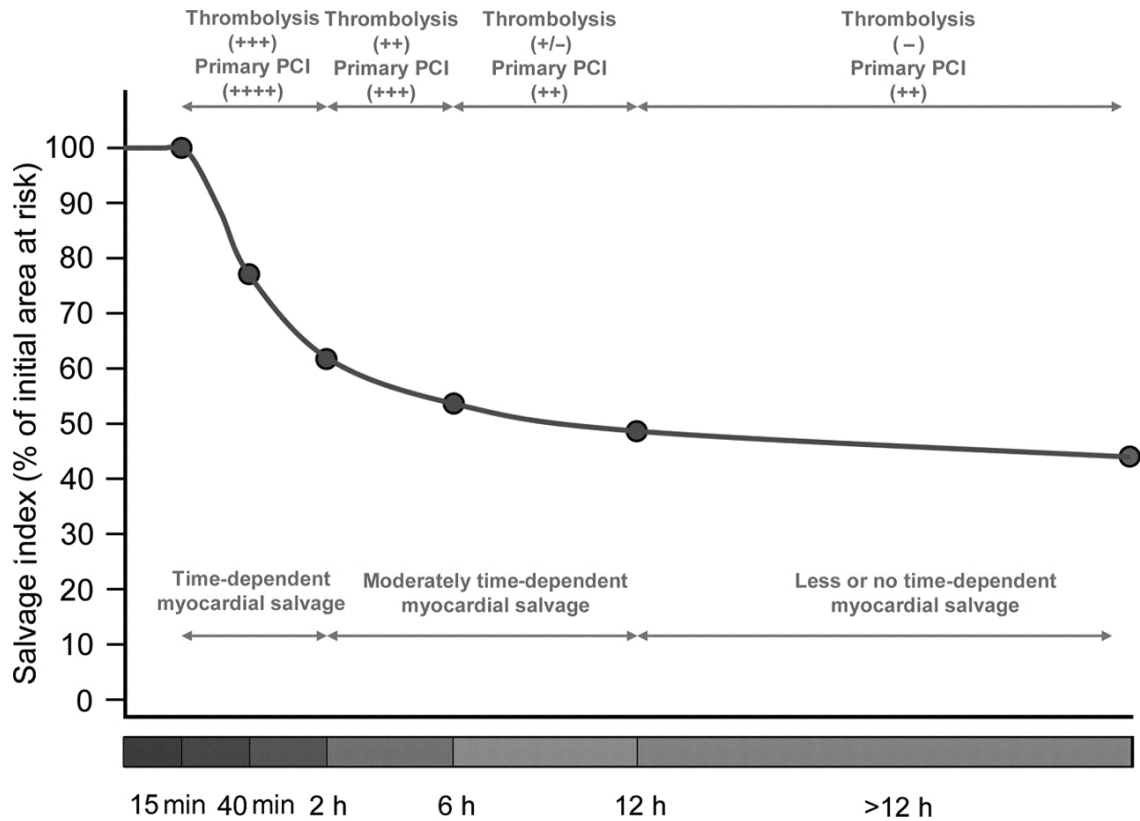


Figura 4: Dependencia del porcentaje miocárdico salvado tras la apertura del vaso en función del tiempo.

Se observa una rápida progresión de la necrosis en las 2 primeras horas, que se entelentece posteriormente. Tras 12 horas la recuperación es escasa. Tomado de ⁽⁹⁾.

1.3.3.2. Consecuencias clínicas.

La implementación de las estrategias de reperfusión ha hecho que se produzca una reducción marcada de la mortalidad intrahospitalaria en los países desarrollados, disminuyendo desde un 20 % en los años 80 hasta aproximadamente un 5 % en la actualidad ⁽¹⁰⁾. Paradójicamente, esta reducción

de la mortalidad ha provocado un aumento de la incidencia de insuficiencia cardíaca, dado que los pacientes con disfunción ventricular marcada que previamente no sobrevivían a la fase aguda actualmente lo hacen, con las secuelas que ello determina. De hecho, la disfunción ventricular post-infarto es una de las principales causas de insuficiencia cardíaca en la actualidad ⁽¹¹⁾.

Por ello, y dado que el tamaño del infarto es el mayor determinante del pronóstico a largo plazo, se están estudiando múltiples estrategias para reducirlo bajo la hipótesis de que así puede mejorarse el pronóstico y reducir el desarrollo de insuficiencia cardíaca.

1.3.3.3. Tratamiento del síndrome coronario agudo con elevación del ST ^(12, 13).

Dado que la necrosis irreversible del miocardio dependiente de la arteria coronaria ocluida es un proceso que transcurre en horas, el manejo del síndrome coronario agudo con elevación del ST se basa en un diagnóstico precoz, con la atención rápida al paciente y obtención de un electrocardiograma, la monitorización y acceso a desfibrilador para el eventual tratamiento de las arritmias ventriculares que pueden conllevar la muerte del paciente en caso de no ser tratadas rápidamente, y las medidas que permitan restaurar lo antes posible el flujo coronario de la arteria ocluida dentro de las primeras 12 horas del comienzo de los síntomas

Actualmente existen dos modalidades básicas de tratamiento para restaurar el flujo coronario: la fibrinólisis y la angioplastia primaria.

La fibrinólisis consiste en la administración intravenosa de un agente con actividad fibrinolítica para intentar conseguir la disolución parcial del trombo y la restauración del flujo coronario.

El tratamiento fibrinolítico quedó establecido con la publicación en 1986 del estudio GISSI ⁽¹⁴⁾, en el que se demostró que la administración de estreptocinasa intravenosa proporcionaba una reducción significativa de la mortalidad en pacientes tratados en primeras 6 horas tras el comienzo de los síntomas. Actualmente está claro que la fibrinólisis recanaliza la oclusión trombótica asociada al IAMCEST y que la restauración del flujo coronario reduce el tamaño del infarto y mejora la función miocárdica y la supervivencia, tanto a corto como a medio plazo, tanto más cuanto más precozmente se administre el tratamiento.

Aunque se han desarrollado varios agentes fibrinolíticos, actualmente el más utilizado es Tenecteplasa, acompañándose de antiagregantes (AAS y Clopidogrel) y heparina.

Sin embargo, el tratamiento fibrinolítico se asocia a un aumento discreto pero significativo de aparición de un ictus hemorrágico en el primer día tras la administración del tratamiento (0,9-1 % en los últimos ensayos) y de hemorragias graves extracraneales (4-13 % de hemorragias que requieren transfusión o ponen en riesgo la vida del paciente). Este mayor riesgo de hemorragias determina asimismo las contraindicaciones de su administración.

Asimismo, la eficacia de la fibrinólisis, valorada como la presencia de datos sugestivos de reperfusión (desaparición del dolor y normalización de al

menos un 50 % del ascenso del ST a los 90 minutos de su administración) es limitada, y tanto más cuanto mayor es el tiempo de evolución y, por tanto, la organización del trombo coronario.

La angioplastia primaria consiste en la realización de una coronariografía urgente para conseguir la apertura del vaso responsable del infarto agudo con elevación del ST. Para ello es necesario tener un quirófano y personal cualificado disponible en un período corto de tiempo, lo cual reduce su disponibilidad.

Para su realización se inserta un introductor por vía arterial (arteria radial o femoral) por el cual se introducen catéteres que permiten canalizar de forma selectiva ambas coronarias (izquierda y derecha) e inyectar contraste yodado. Mediante fluoroscopia se visualiza la luz de las arterias coronarias detectando el lugar de la oclusión. El flujo coronario en la arteria responsable del infarto se evalúa mediante el sistema utilizado en el ensayo TIMI ⁽¹⁵⁾:

TIMI 0: No existe circulación de contraste después de la obstrucción.

TIMI 1: Mínima circulación de contraste después de la obstrucción.

TIMI 2: Buen flujo de contraste, aunque lento, más allá de la obstrucción.

TIMI 3: Circulación normal y rápida del contraste a través del vaso.

Una vez realizado el diagnóstico se pasa una guía a través de la oclusión que sirva de carril para avanzar los dispositivos para la realización de la angioplastia. Posteriormente puede realizarse tromboaspiración manual, si bien su uso rutinario es actualmente discutido ⁽¹⁶⁾; para ello se introduce un catéter hasta la coronaria a través del cual se aspira con una jeringa en vacío. En un

porcentaje importante de casos consigue restaurar el flujo y reduce la carga trombótica de la placa y la posibilidad de embolización distal. Tras ello se realiza el implante de stents intracoronarios en el sitio de la lesión con o sin dilatación con balón previa (Figura 5)

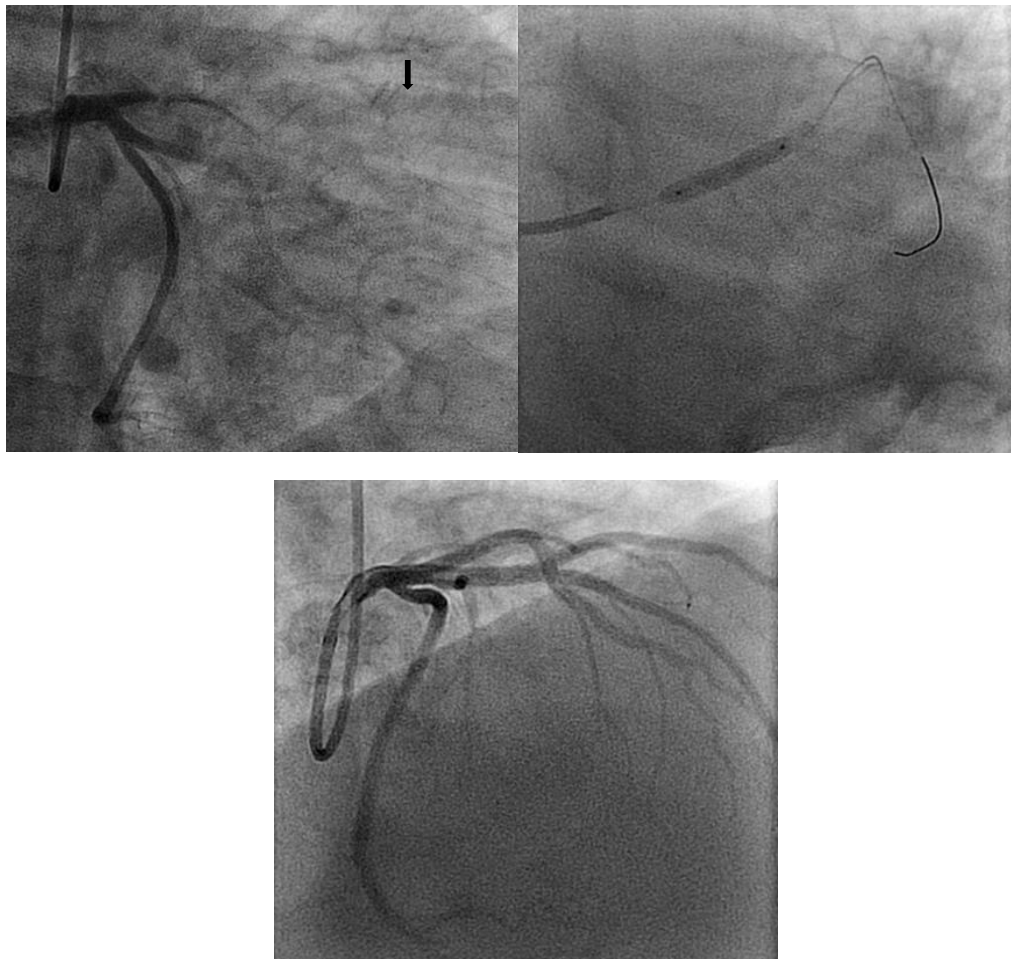


Figura 5: Angioplastia primaria en un infarto anterior

Arriba izquierda: Se observa oclusión trombótica del segmento proximal de la arteria descendente anterior (flecha). Arriba derecha: Implante de stent en la zona afectada. Abajo: Se observa el restablecimiento del flujo en la arteria descendente anterior.

La angioplastia primaria necesita un tratamiento concomitante tanto antiagregante como anticoagulante. Como tratamiento antiagregante se utiliza doble terapia con Aspirina y un segundo fármaco que puede ser Clopidogrel, Prasugrel o Ticagrelor. En ocasiones se añade además Abciximab. Como anticoagulante pueden utilizarse heparinas o Bivalirudina.

La angioplastia primaria es la estrategia de reperfusión preferida en pacientes con IAMCEST siempre que se pueda realizar en un tiempo adecuado y por un equipo experimentado. La angioplastia primaria es eficaz para conseguir y mantener la permeabilidad de la arteria coronaria, reduciendo el riesgo de sangrado frente a la fibrinólisis. En los ensayos clínicos en los que se ha comparado la angioplastia primaria con la fibrinólisis intrahospitalaria se ha demostrado repetidamente que la angioplastia primaria es superior.

Si la angioplastia primaria no puede realizarse en 120 minutos tras el primer contacto médico por un equipo experimentado, entonces la fibrinólisis, especialmente si esta se puede llevar a cabo de forma extrahospitalaria y si han transcurrido menos de 120 minutos desde el inicio de los síntomas (Figura 6).

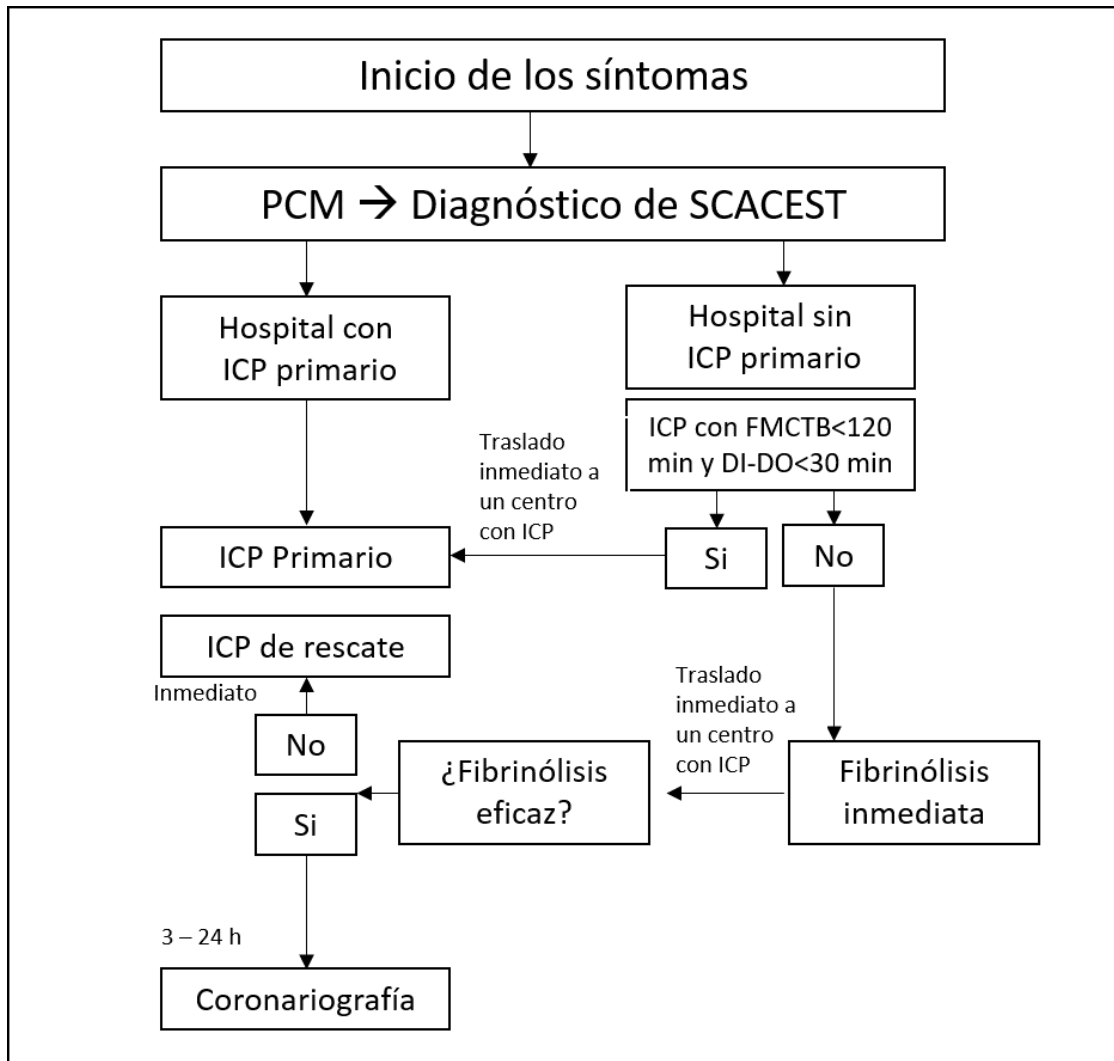


Figura 6: Algoritmo de revascularización del infarto agudo de miocardio con elevación del ST.

PMC: Primer contacto médico. ICP: Intervencionismo percutáneo electivo. FMCTB: Tiempo desde el PMC al inflado de balón. DI-DO: tiempo puerta-aguja. Tomada de las guías europeas de revascularización miocárdica. ⁽¹³⁾

1.4. ISQUEMIA – REPERFUSIÓN EN LA CARDIOPATÍA ISQUÉMICA

1.4.1. Introducción ⁽¹⁷⁾

Si bien la reperfusión, ya sea mediante angioplastia primaria o mediante fibrinólisis, es el tratamiento estándar del SCACEST y la restauración rápida del flujo coronario reduce el tamaño del infarto y la mortalidad, paradójicamente, esta restauración del flujo sobre células previamente isquémicas y la reactivación del metabolismo celular en unas condiciones no fisiológicas puede producir un daño adicional y complicaciones. Este fenómeno se conoce como daño por reperfusión, y es más frecuente cuanto más se demora la apertura del vaso.

De momento, los intentos terapéuticos para reducir el daño por reperfusión no han sido eficaces, a pesar de la mejora del conocimiento de la fisiopatología de este proceso y los ensayos con varios fármacos.

El daño por reperfusión se define como la disfunción miocárdica, vascular o electrofisiológica que se produce por la restauración del flujo sobre un tejido previamente isquémico. Sus manifestaciones incluyen cuatro tipos de disfunción cardíaca ⁽¹⁸⁾:

- Aturdimiento miocárdico. Es la disfunción mecánica que persiste tras la reperfusión aunque no haya daño irreversible y el flujo coronario se haya restablecido. El miocardio se suele recuperar tras varios días o semanas.
- Non-reflow. Incapacidad de reperfundir un región previamente isquémica. Se refiere a la resistencia que ofrece la microcirculación al flujo sanguíneo tras la apertura de la arteria responsable del infarto.
- Arritmias por reperfusión.

- Muerte celular por reperfusión.

1.4.2. Fisiopatología.

La interrupción del flujo sanguíneo a los miocitos por una oclusión coronaria desencadena un conjunto de eventos que dan lugar a daño y finalmente muerte celular. Estos eventos incluyen:

- Caída en los niveles intracelulares de ATP.
- Transición de metabolismo aeróbico a anaeróbico.
- Acúmulo de productos del metabolismo anaerobio.
- Reducción del pH intracelular

Inicialmente el daño es reversible, y si se produce el restablecimiento del flujo se produce la recuperación de la estructura y la función. Si la isquemia se extiende en el tiempo el daño se hace irreversible. Sin embargo, antes de la muerte celular hay un período en el que el miocito es viable pero vulnerable, de tal manera que la restauración del flujo produce un daño celular adicional.

Durante la reperfusión se producen una serie de cambios bruscos que condicionan este daño ⁽¹⁸⁾: Figura 7.

- Generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Incluyen el peróxido de hidrógeno, ácido hipocloroso, anión superóxido o radicales hidroxilos. Durante la reperfusión se generan por la acción de la xantina-oxidasa de las células endoteliales y de la cadena de transferencia de electrones de las

mitocondrias de los cardiomiocitos; posteriormente también por la acción de la NAPDH oxidasa de los neutrófilos. Las ROS producen daño miocárdico por inducir la apertura de una proteína transmembrana llamada MPTP (mitochondrial permeability transition pore), atraer neutrófilos, producir disfunción del retículo sarcoplásmico (aumentando por ello el calcio intracelular) y por causar daño en el ADN.

- Restauración brusca del pH. Durante la isquemia se produce una reducción del pH por acumulación de ácido láctico. La restauración del flujo produce una corrección brusca por el lavado de este ácido láctico y la acción de los intercambiadores Na^+/H^+ y $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$. Este proceso produce una inversión del flujo a través de intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ de la membrana aumentando la entrada de calcio a la célula.

- Sobrecarga intracelular de calcio. Se debe al daño en la membrana del sarcolema y a la disfunción del retículo sarcoplásmico por el estrés oxidativo. Asimismo, la corrección brusca de la acidosis da lugar a una reversión de la función del intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ de la membrana aumentando la entrada de calcio a la célula.

- Inflamación. Tras varias horas de la reperfusión se produce un acúmulo de neutrófilos en respuesta a factores quimiotácticos, como las ROS, citocinas y el complemento. Factores como la P-selectina, el CD-18 y CD-11 facilitan la entrada de estos neutrófilos en el tejido miocárdico produciendo muerte celular mediante la liberación de enzimas y la producción de ROS.

- Daño mitocondrial ⁽¹⁹⁾: Durante la isquemia se produce en la mitocondria un aumento del calcio mitocondrial, una reducción de los nucleótidos de adenosina y un incremento del estrés oxidativo. Esto da lugar a un aumento de la expresión una proteína transmembrana llamada MPTP (mitochondrial permeability transition pore), que sin embargo permanece cerrada como consecuencia de la acidosis. Durante los primeros minutos de la reperfusión esta proteína se abre como consecuencia de la sobrecarga de calcio, el estrés oxidativo, la restauración del PH y la depleción de ATP. Esta apertura da lugar a una entrada de proteínas a la mitocondria, que produce por un lado un aumento de la osmolaridad, que desencadena la rotura de la membrana mitocondrial y la apoptosis, y por otro la alteración del gradiente iónico, con reducción de la síntesis de ATP y la activación de enzimas degradativas. La apertura de la MPTP es un determinante crítico del daño por reperfusión y, como vemos, vía final de varios mecanismos implicados en éste.

- Hipercontractilidad miocitaria. Se debe a la sobrecarga intracelular de calcio, pero también a la reoxigenación y reenergización del cardiomiocito, ya que la restauración del flujo sanguíneo proporciona oxígeno y energía que estimulan las miofibrillas, resultando en el contexto de un aumento de calcio en una contracción incontrolada y excesiva. Por último, la acidosis que se produce durante la isquemia inhibe la contracción miofibrilar; la restauración del flujo y del pH da lugar a que se elimine esta inhibición. La hipercontractura de los cardiomiocitos puede producir un daño adicional tanto por poder producir daños de los elementos del citoesqueleto, como por poder producir daño al sarcolema de células adyacentes.

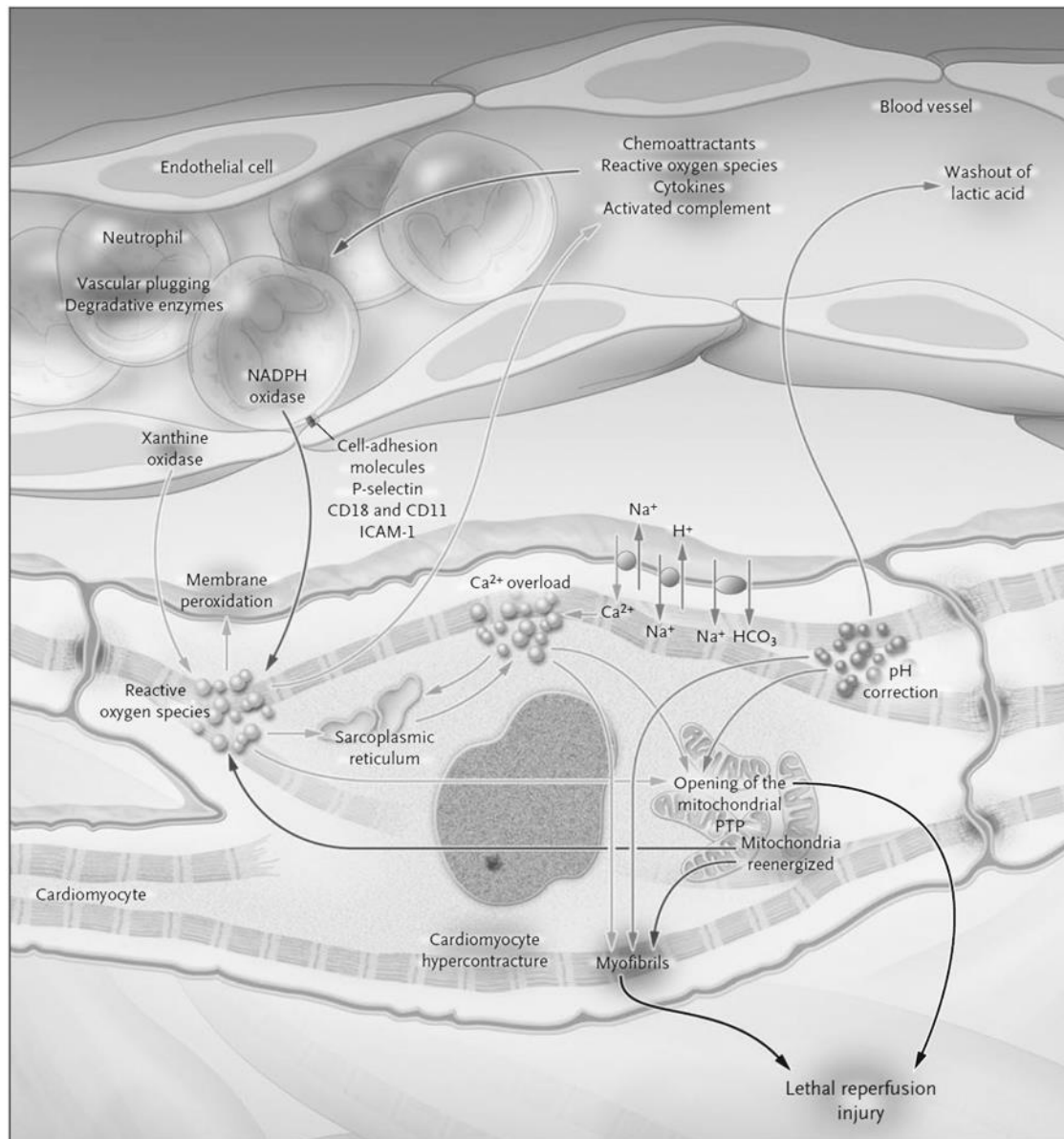


Figura 7: Mediadores del daño por reperfusión. Tomado de (18).

1.4.3. Ensayos con fármacos cardioprotectores.

La posibilidad de mejorar la eficacia de las intervenciones coronarias percutáneas mediante tratamientos cardioprotectores empleados en el momento de la revascularización abre una nueva ventana terapéutica capaz de mejorar el resultado clínico cuando ya no es posible reducir aún más el tiempo de la reperfusión.

- Inhibición de la MPTP. La administración de Ciclosporina intravenosa durante la reperfusión, que entre sus acciones inhibe dicha proteína, se ha estudiado en varios pequeños estudios con resultados positivos. Sin embargo, en el ensayo CIRCUS se aleatorizaron 970 pacientes con IAMCEST de menos de 12 horas de evolución sometidos a angioplastia primaria a tratamiento con Ciclosporina (2,5 mg por kg de peso, en bolo intravenoso) o placebo antes de la apertura del vaso . No se observó beneficio en el objetivo primario de eventos clínicos ni previno la aparición de remodelado adverso al año ⁽²⁰⁾. Los resultados de otro ensayo que ha incluido a 444 pacientes Ciclosporine in Reperfused Acute Myocardial Infarction (CYCLE) están pendientes de publicación.

- Adenosina. Se han realizado varios ensayos evaluando la utilidad de la administración de Adenosina justo al abrir el vaso culpable. Si bien globalmente no se ha podido demostrar un beneficio, en el subgrupo en el que la revascularización se realizó antes de 3 horas puede reducir el tamaño del infarto y mejorar la recuperación de la función sistólica a los 6 meses. ⁽²¹⁻²⁵⁾

- Postcondicionamiento isquémico. La interrupción intermitente del flujo mediante el inflado intracoronario del balón de angioplastia tras la restauración

de éste mostró resultados alentadores en pequeños estudios. Sin embargo, en el mayor ensayo aleatorizado (POST trial) no se consiguió mejorar el pronóstico ⁽²⁶⁾ ni reducir el tamaño del infarto ⁽²⁷⁾.

- Postcondicionamiento isquémico remoto. En pequeños ensayos aleatorizados se ha observado una reducción del tamaño del infarto mediante la aplicación de 3-4 ciclos de 5 minutos de isquemia/reperfusión en miembro inferior o superior en el momento de la apertura del vaso o durante el traslado ⁽²⁸⁻³⁰⁾. Estos hallazgos deben confirmarse en los ensayos CONDI II y ERIC-PPCI, actualmente en marcha.

- Metoprolol. En un ensayo con 270 pacientes, la administración de metoprolol intravenoso en IAM de localización anterior y menos de 6 horas de evolución antes de la revascularización percutánea se asoció a una disminución del tamaño del infarto, mejor fracción de eyección a los 6 meses y una tendencia a una menor tasa de eventos clínicos a los 2 años ^(31, 32).

- Nicorandil. Un metaanálisis de 14 pequeños ensayos mostró una mejoría en el flujo final y en la fracción de eyección, y una reducción en la incidencia de arritmias ventriculares e insuficiencia cardíaca, pero sin diferencias en los niveles de CPK ni en mortalidad ⁽³³⁾.

1.5. REMODELADO VENTRICULAR

1.5.1. Introducción

El remodelado ventricular puede definirse como los cambios en la expresión genómica, moleculares, celulares e intersticiales que se manifiestan clínicamente como cambios en el tamaño, forma y función del corazón tras un daño ⁽³⁴⁾. En este proceso el cardiomiocito es el principal agente, aunque también están involucrados el intersticio, los fibroblastos, el colágeno y la vascularización coronaria.

Esta respuesta adaptativa permite al corazón mantener la función durante la fase aguda del infarto en respuesta al aumento de la sobrecarga de presión y volumen. Así, en un porcentaje de pacientes con infarto se produce en las primeras semanas una dilatación ventricular limitada, que puede compensar el gasto cardíaco. Sin embargo, en otros pacientes se produce un remodelado progresivo que es perjudicial y que se asocia a un peor pronóstico. Una vez establecido, el remodelado adverso contribuye a la aparición de insuficiencia cardíaca ⁽³⁵⁾.

Así, en un estudio previo casi el 26 % de los pacientes desarrollaron una dilatación ventricular a las 4 semanas de un primer infarto, que permitía mantener el gasto cardíaco en reposo. Sin embargo, hasta el 20 % desarrolló además una dilatación ventricular progresiva, inicialmente compensatoria, posteriormente no compensatoria y finalmente disfunción ventricular severa. Los predictores de esta respuesta fueron la función sistólica y el índice sistólico a los 4 días, el tamaño del infarto y su localización ⁽³⁶⁾.

La magnitud del remodelado se correlaciona fuertemente con el tamaño del infarto. Tras un mes, los infartos grandes cursan con mayor dilatación y mayor estrés sistólico y diastólico que los pequeños. Posteriormente puede producirse un aumento progresivo del volumen telesistólico y una reducción de la fracción de eyección, que condicionan el pronóstico.

A pesar de las modernas estrategias de reperfusión y los tratamientos farmacológicos, la incidencia de insuficiencia cardíaca tras un infarto con elevación del segmento ST permanece inaceptablemente alta, por lo que se necesitan nuevos tratamiento que mejoren la calidad de vida y supervivencia tras un infarto ⁽³⁷⁾.

1.5.2. Fisiopatología

La pérdida aguda de miocardio produce un aumento brusco de las condiciones de carga del ventrículo izquierdo que induce un patrón de remodelado que afecta a los bordes del infarto y a zonas remotas. Esta necrosis y los cambios de carga inician una cascada de procesos intracelulares que modulan los cambios reparativos, que incluyen la dilatación, hipertrofia y la formación de una escara de colágeno. El remodelado ventricular puede continuar semanas o meses hasta que las cargas se compensen por la fuerza ejercida por la escara de colágeno.

Para entender este proceso hay que considerar los tres componentes del miocardio: los cardiomiocitos, la matriz extracelular y la microcirculación capilar ⁽³⁸⁾.

El proceso de remodelado se puede dividir en tres fases que se superponen en el tiempo: fase inflamatoria, fase proliferativa y fase de maduración.

Tras el daño isquémico inicial se observa una respuesta inflamatoria intensa caracterizada por infiltrado de neutrófilos, seguido de un infiltrado de monocitos/macrófagos y linfocitos. Estos monocitos muestran un fenotipo inicialmente proinflamatorio, presentando posteriormente un fenotipo angiogénico y fibrótico. Los linfocitos, aunque en menor número, también juegan un papel en el remodelado ⁽³⁹⁾.

Los detritus celulares activan los inflamasomas, una estructura macromolecular que activa a la caspasa-1 y promueve la maduración de la IL-1 β . Esta activación de los inflamasomas produce la amplificación del daño tisular y la respuesta inflamatoria local y sistémica. Los leucocitos van a eliminar los detritus celulares, a la vez que liberan citocinas y factores de crecimiento ⁽⁴⁰⁾.

En los primeros días el infarto se empieza a expandir como resultado de la pérdida de la tensión pasiva, produciendo una dilatación ventricular aguda, adelgazamiento de la pared infartada y estiramiento de los miocitos. La degradación de la matriz extracelular promueve la disminución de los cardiomiocitos y el adelgazamiento de la escara. Los fibroblastos producen una cicatriz de colágeno no compliante para mantener la geometría ventricular y prevenir la formación de aneurismas. Finalmente se produce la maduración de la cicatriz, con apoptosis de los neutrófilos y el cambio fenotípico de macrófagos y linfocitos.

A lo largo del tiempo, el incremento de la tensión parietal y la activación neurohormonal produce apoptosis de los cardiomiocitos en la zona no isquémica, pudiendo determinar un adelgazamiento parietal y dilatación de las cámaras, con aumento de la masa ventricular sin aumento de su espesor (hipertrofia excéntrica) ⁽⁴¹⁾. Como queda dicho, si esta dilatación inicialmente beneficiosa no se consigue compensar y se mantiene en el tiempo, puede dar lugar a disfunción ventricular e insuficiencia cardíaca.

Los factores implicados en el remodelado son:

a) Miocito cardíaco. Como resultado de la pérdida de cardiomiocitos durante el infarto, hay unas condiciones de precarga alteradas que pueden inducir la expresión de genes ligados a la hipertrofia. Así, los cardiomiocitos supervivientes pueden elongarse o engrosarse como mecanismo compensatorio para mantener el gasto sistólico.

b) Fibroblastos. Tanto en modelos animales como humanos, se produce tras la isquemia la estimulación de los fibroblastos con aumento de la síntesis de colágeno tanto en la zona infartada como en la no infartada o remota.

c) Degradación de colágeno. La colagenasa miocárdica, que degrada el colágeno, se encuentra inactiva en el ventrículo sano, activándose durante el daño miocárdico. Se piensa que esta activación podría contribuir a la dilatación ventricular.

d) Apoptosis. Se ha demostrado que la apoptosis miocárdica durante las fases de isquemia y reperfusión durante el infarto también podría jugar un papel como mecanismo regulatorio en la respuesta adaptativa a la sobrecarga de presión.

En cuanto a los factores que influyen en el remodelado podemos mencionar:

a) Cambios en las condiciones hemodinámicas: Tras la pérdida de masa miocárdica en el infarto se produce inicialmente una dilatación ventricular izquierda de forma precoz como respuesta compensatoria. La hipertrofia es un fenómeno más tardío y limitado, que se produce durante el primer año. Si se produce una dilatación progresiva que no se compense adecuadamente con una hipertrofia reactiva se producirá un considerable aumento de la tensión parietal, que en caso de no ser tratada puede llevar a una dilatación cada vez mayor e insuficiencia cardíaca ⁽⁴²⁾.

b) Activación neurohormonal: La activación neurohormonal se produce como respuesta compensatoria a la reducción del volumen sistólico, pero también colabora a largo plazo con la progresión de la enfermedad y el remodelado. Tanto el sistema adrenérgico como el sistema renina-angiotensina aldosterona están implicados en estos cambios ⁽⁴³⁾:

- Sistema adrenérgico. La estimulación beta-adrenérgica actúa sobre varios mecanismos implicados en el remodelado. Entre ellos destacan las vías de la proteína-cinasa activada por mitógenos (MAPK), la ruta receptor-Gs-AC-AMPC, la señal Calcio-calcineurin-NFAT/CaMKII-HDACs, la fosfatidilinositol-3-cinasa, la estimulación de los receptores β -3, la estimulación del sistema renina-angiotensina-aldosterona, la ruta de la interleucina-6/STAT3 o a través del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β). En general, estas vías favorecen un remodelado adverso, si bien las vías de la PI3K y la activación de

receptores β -3 puede ser beneficiosa al promover la supervivencia celular y mantener el equilibrio de la producción de radicales libres en el miocardio ⁽⁴⁴⁾.

- Sistema renina – angiotensina – aldosterona. Tanto la angiotensina II como la aldosterona ejercen efectos directos sobre el miocardio. La angiotensina II tiene múltiples efectos directos citotóxicos sobre el cardiomiocito, induciendo apoptosis, promoviendo la hipertrofia celular y estimulando la fibrosis mediante el receptor de angiotensina II tipo 1 (AT-1R). La activación de este receptor produce vasoconstricción, aumenta la liberación de aldosterona e incrementa la actividad simpática. En pacientes infartados, la presencia de una alta densidad de estos receptores en las plaquetas se asocia a mayor riesgo de remodelado. Por otro lado, la aldosterona juega también un papel importante en el remodelado al estimular la síntesis de colágeno.

c) Modificaciones en la matriz extracelular ⁽⁴³⁾. La matriz extracelular es un entorno dinámico con múltiples componentes que interaccionan manteniendo las uniones intercelulares y las señales celulares. Entre los componentes celulares, como los fibroblastos, y los estructurales, como el colágeno, laminina o elastina, se encuentran las metaloproteinasas de matriz (MMPs) con sus respectivos inhibidores tisulares endógenos (TIMPs). Tanto unos como otros desempeñan un papel fundamental en el remodelado ventricular, al regular el balance degradación / conservación de los diferentes componentes estructurales de la matriz. Se han descritos diversas MMPs que se

diferencian en su sustrato de la matriz extracelular. Se secretan como proenzimas en el espacio extracelular por diversas células, como las endoteliales, los fibroblastos, las células musculares lisas o los cardiomiocitos, siendo activados por proteasas, otras MMPs o los TIMPs. La expresión de las MMPs se puede regular por regulación de su transcripción, activación enzimática o inhibición endógena. Así, el factor nuclear kappa B (NF- κ B), el activador de proteína-1 (AP-1) y los transductores de señales y activadores de la transcripción (STAT) modulan su expresión; además, la angiotensina II, a través de la modulación del NF- κ B, AP-1 y los STAT, modifica la expresión de las MMPs.

d) Otros factores bajo estudio: Endotelina, factor de necrosis tumoral, interleucinas, óxido nítrico.

1.5.3. Valoración clínica del remodelado ventricular

1.5.3.1. Ecocardiograma

Las medidas para valorar el remodelado ventricular incluyen el tamaño, forma y masa ventricular, la fracción de eyección y los volúmenes telesistólico y telediastólico. Ninguno de ellos puede considerarse definitivo y cada uno indica un aspecto diferente de la enfermedad.⁽³⁴⁾

La fracción de eyección deprimida se asocia con un peor pronóstico tras un infarto. Asimismo, el aumento de los volúmenes ventriculares, en especial el volumen telesistólico, tienen una gran importancia pronóstica.⁽⁴⁵⁾

En un documento de consenso de la Sociedad Americana de Ecocardiografía en conjunción con la Asociación Europea de Ecocardiografía ⁽⁴⁶⁾ se recomienda para la valoración y seguimiento del remodelado ventricular izquierdo la estimación cuantitativa de los volúmenes, fracción de eyección, masa y forma del ventrículo izquierdo. Para la determinación de los volúmenes y la fracción de eyección se recomienda, entre los métodos que se realizan en 2 dimensiones, el método de discos biplano, en el que el volumen del ventrículo izquierdo se calcula mediante la suma de un conjunto de discos elípticos, en el que la altura de cada disco es una fracción (normalmente 1/20) del eje largo del ventrículo izquierdo, obtenido en los planos apicales ortogonales de 4 cámaras y 2 cámaras.

Una vez obtenidos los valores de los volúmenes telediastólico (VTDVI) y telesistólico (VTSVI) del ventrículo izquierdo, la fracción de eyección (FEVI) se obtiene mediante la fórmula:

$$FEVI = (VTDVI - VTSVI) / VTDVI$$

Los valores de referencia propuestos en dicho documento de consenso se exponen las tablas 1 y 2:

Tabla 1: Límites de referencia de masa y geometría ventricular.SC: Superficie corporal. VI: Ventrículo izquierdo ⁽⁴⁶⁾.

Límites de referencia de dimensiones y volúmenes del ventrículo izquierdo								
	Mujeres				Hombres			
	Normal	Disf. Ligera	Disf. moderada	Disf. severa	Normal	Disf. ligera	Disf. moderada	Disf. Severa
Dimensiones VI								
Diámetro	3,9-5,3	5,4-5,7	5,8-6,1	>6,2	4,2-5,9	6,0-6,3	6,4-6,8	>6,9
Diámetro/SC	2,4-3,2	3,3-3,4	3,5-3,7	>3,8	2,2-3,1	3,2-3,4	3,5-3,6	>3,7
Diámetro/Altura	2,5-3,2	3,3-3,4	3,5-3,6	>3,7	2,4-3,3	3,4-3,5	3,6-3,7	>3,8
Volumen VI								
Volumen diastólico	56-104	105-117	118-130	>131	67-155	156-178	179-201	>201
Volumen diastól / SC	35-75	76-86	87-96	>97	35-75	76-86	87-96	>97
Volumen sistólico	19-49	50-59	60-69	>70	22-58	59-70	71-82	>83
Volumen sistólico /SC	12-30	31-3	37-42	>43	12-30	31-36	37-42	>43

Tabla 2: Valores de referencia de la función sistólica del ventrículo izquierdo. ⁽⁴⁶⁾

Límites de referencia de la función del ventrículo izquierdo								
	Mujeres				Hombres			
	Normal	Disf. ligera	Disf. moderada	Disf. severa	Normal	Disf. ligera	Disf. moderada	Disf. severa
Modo 2D								
Fracción de eyección (%)	>55	45-54	30-44	<30	>55	45-54	30-44	<30

Para la determinación de estos parámetros, la utilización de un ecopotenciador ha mostrado mejorar la exactitud y reproducibilidad de las medidas ⁽⁴⁷⁾.

Sin embargo, no hay una definición uniforme de remodelado en los diferentes estudios. Así, en el GISSI-3 ⁽⁴⁸⁾ se definió como un aumento del índice de volumen telediastólico de VI con respecto al basal mayor al 5 %. En general se define como remodelado al aumento de los volúmenes ventriculares en el seguimiento con respecto a los basales.

1.5.3.2. Resonancia nuclear magnética ⁽⁴⁹⁾

La resonancia cardíaca es una técnica no invasiva que en el contexto del infarto nos proporciona información sobre la función, perfusión y caracterización del tejido, de una manera reproducible y sin dependencia de la ventana acústica del paciente.

Es considerada el gold estándar para evaluación de los volúmenes cardíacos, masa ventricular y función sistólica, con mayor exactitud y reproducibilidad que la ecocardiografía.

La caracterización de los tejidos se realiza mediante el análisis de los tiempos de relajación de protones T1 (tiempo de relajación longitudinal) y T2 (que expresa la coherencia de las frecuencias de relajación). Se utilizan las secuencias en T2 para el análisis sin contraste, y las imágenes en T1 para las secuencias con contraste.

Para el estudio de los volúmenes se utilizan las secuencias de cine, en las que se adquieren cortes en varios ejes cardíacos en múltiples fases del ciclo, aplicándose el método de discos para su cálculo.

Por otro lado, mediante la técnica del realce tardío se puede detectar la presencia y extensión de la escara necrótica. Para ello se emplea Gadolinio, un agente extracelular que se difunde rápidamente por el espacio intersticial, pero no por el intracelular. Por ello aumenta su distribución en zonas de miocardio necrótico o fibrótico, que aparecen de color blanco, frente al negro de las zonas viables, donde el tejido intersticial es escaso. Dado que además la cinética de lavado es más lenta en la zona de necrosis, el contraste persiste más tiempo en dichas zonas. Las imágenes son secuencias potenciadas en T1 y con preparación de la magnetización (inversión – recuperación) que se adquieren a los 10 minutos de la administración del contraste. En dichas imágenes las zonas necróticas o fibróticas presentan mayor intensidad de señal, apareciendo de color blanco.

El patrón de realce tardío de Gadolinio es útil para diferenciar la necrosis tras un infarto (transmural o subendocárdica) de la fibrosis de otras entidades (miocardiopatías, miocarditis). Asimismo, puede evaluarse la presencia de daño microvascular persistente, que se manifiesta por la aparición de zonas hipointensas dentro de las zonas de necrosis (Figura 8).

Gracias a estas secuencias se puede evaluar la extensión de la necrosis irreversible. Sin embargo, hay que tener en cuenta en el contexto agudo del infarto el espacio extracelular aumenta también por edema e inflamación, pudiendo entrar además el contraste a través de las membranas celulares dañadas. Por ello, en los primeros días de evolución la extensión del realce tardío es mayor que en la fase crónica, una vez el proceso de cicatrización se ha

completado. Así, el tamaño del infarto medido por esta técnica es alrededor de un 25 % menor a las 4-6 semanas que en la fase aguda.

En el estudio del remodelado ventricular, la resonancia ofrece varias ventajas. Los valores de volúmenes y masa son más fiables y reproducibles que mediante otros métodos. Asimismo, el tamaño del infarto, la presencia de necrosis transmural y de datos de daño microvascular persistente son potentes predictores de remodelado adverso.

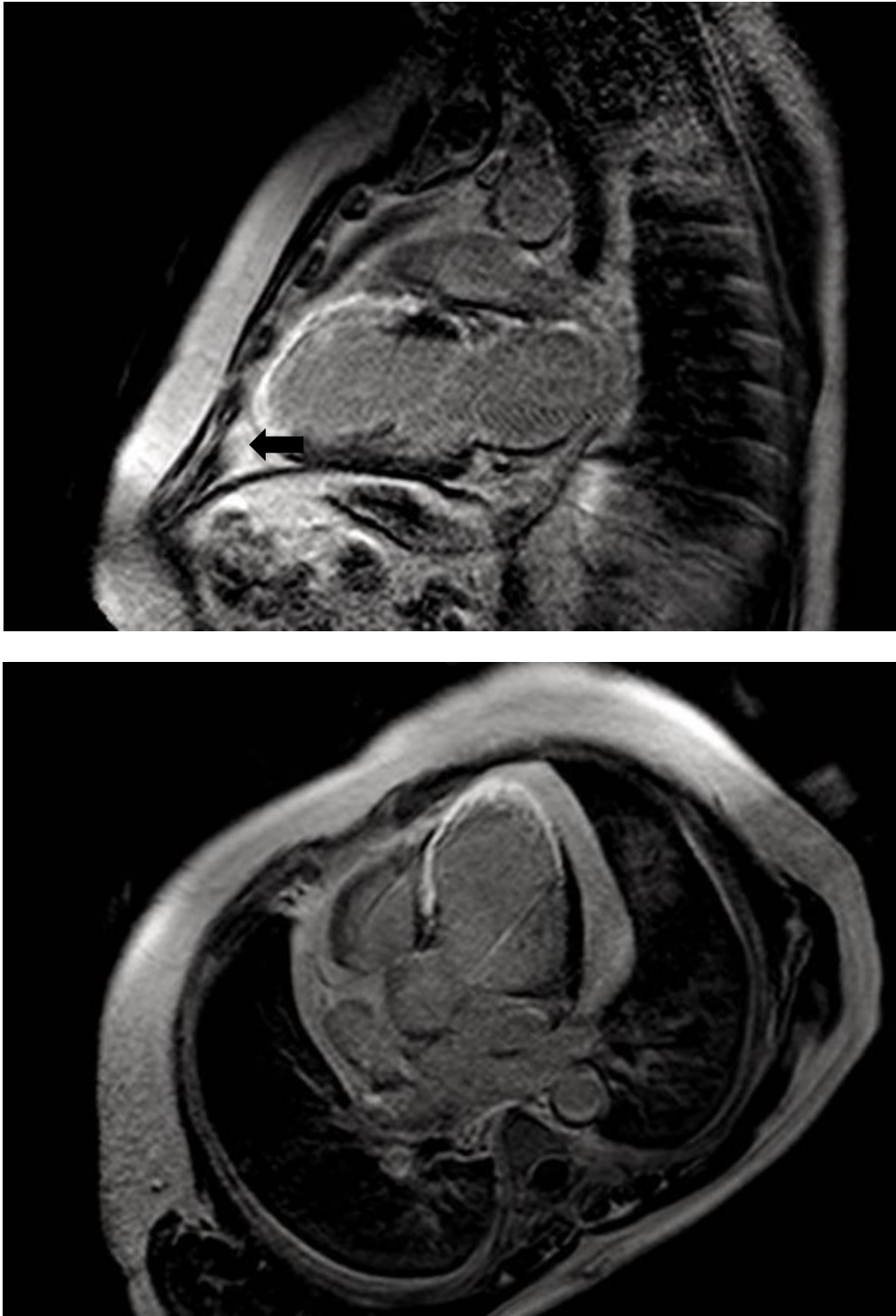


Figura 8: Resonancia nuclear en infarto agudo de miocardio.

Se observan dos cortes de las imágenes de uno de los pacientes de nuestro estudio. Podemos observar en blanco el realce tardío con Gadolinio, transmural en su mayor parte, que afecta al territorio dependiente de la arteria descendente anterior. Asimismo, observamos zonas hipointensas en su interior características de daño microvascular persistente (flecha).

1.5.4. Tratamientos para prevenir el remodelado ventricular

Existen diversas líneas de tratamiento para intentar prevenir el remodelado en función de los mecanismos implicados, que resumimos a continuación.

1.5.4.1. Sobre el sistema renina-angiotensina-aldosterona

Se han realizado varios los ensayos que han mostrado su eficacia a la hora de reducir el remodelado ventricular tras el IAM. Son tres los tipos de fármacos que inhiben dicho sistema.

a) Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA).

Varios fármacos de este grupo han mostrado reducir los diámetros telesistólico y telediastólico frente al grupo placebo, así como una reducción de la mortalidad, como Captopril en el ensayo SAVE ⁽⁵⁰⁾, Trandolapril en el TRACE ⁽⁵¹⁾, Lisinopril en el GISSI-3 ⁽⁵²⁾, Ramipril en el AIRE ⁽⁵³⁾ o Delapril en el DRAMI ⁽⁵⁴⁾. Por ello, en las guías de práctica clínica de la Sociedad Europea de Cardiología aconseja su administración precoz tras un IAMCEST con una indicación clase I si hay disfunción ventricular, insuficiencia cardíaca, diabetes mellitus o infarto de localización anterior, y con indicación clase IIa en el resto de casos, si no está contraindicado.

b) Antagonistas de los receptores de la angiotensina II (ARA-2).

La utilidad de Valsartan tras un IAM se observó en el estudio VALIANT, con resultados equiparables a los de Captopril ⁽⁵⁵⁾. Por ello en las guías se

recomienda su uso como alternativa a los IECAs (en pacientes intolerantes) en pacientes con insuficiencia cardíaca o disfunción sistólica tras IAM ⁽⁵⁶⁾.

c) Inhibidores de la aldosterona.

Se ha estudiado la utilidad de los inhibidores de la aldosterona en insuficiencia cardíaca. Sin embargo, en el ensayo EPHEBUS, desarrollado con Eplerenona en pacientes con IAM con disfunción ventricular e insuficiencia cardíaca, a pesar del beneficio sobre la mortalidad observado ⁽⁵⁷⁾, no se observó una mejoría clara significativa de los parámetros de remodelado ventricular ⁽⁵⁸⁾.

1.5.4.2. Betabloqueantes.

El beneficio de los betabloqueantes sobre el remodelado ventricular en pacientes con insuficiencia cardíaca tras IAM ha quedado demostrado en el ensayo CAPRICORN con Carvedilol ^(59, 60).

1.5.4.3. Estrategias antiinflamatorias.

A pesar de que los ensayos preclínicos han dado algunos resultados prometedores con diversas estrategias con agentes antiinflamatorios, ninguno ha conseguido un beneficio sustancial cuando se han ensayado en humanos (glucocorticoides, antiinflamatorios no esteroideos, inhibidores de las integrinas, el complemento o las metaloproteinasas). ⁽³⁷⁾

1.6. MICRO-RNAs EN LAS ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

1.6.1. Biología de los microRNAs ⁽⁶¹⁾

Los microRNAs son pequeños RNAs de alrededor de 22 nucleótidos que no codifican para proteína. Estas pequeñas moléculas de RNA están codificadas en el genoma celular y son transcritos a RNA en el núcleo dando lugar a los llamados pre-microRNAs, los cuales son procesados y trasladados por la Exportina-5 al citoplasma, donde son transformados en microRNAs maduros y realizan su función (Figura 9). Los microRNAs regulan la expresión génica a nivel post-transcripcional mediante su unión con la región 3' UTR del RNA mensajero (mRNA) de sus genes diana. Es decir, los microRNAs pueden disminuir la expresión de determinadas proteínas, aquellas con las que existe cierta complementariedad en unas regiones específicas de su secuencia. Para ello los microRNAs maduros se integran en una compleja maquinaria llamada RISC-Dicer, guiándola hacia las secuencias de mRNA diana, induciendo su degradación o inhibiendo la traducción a proteína.

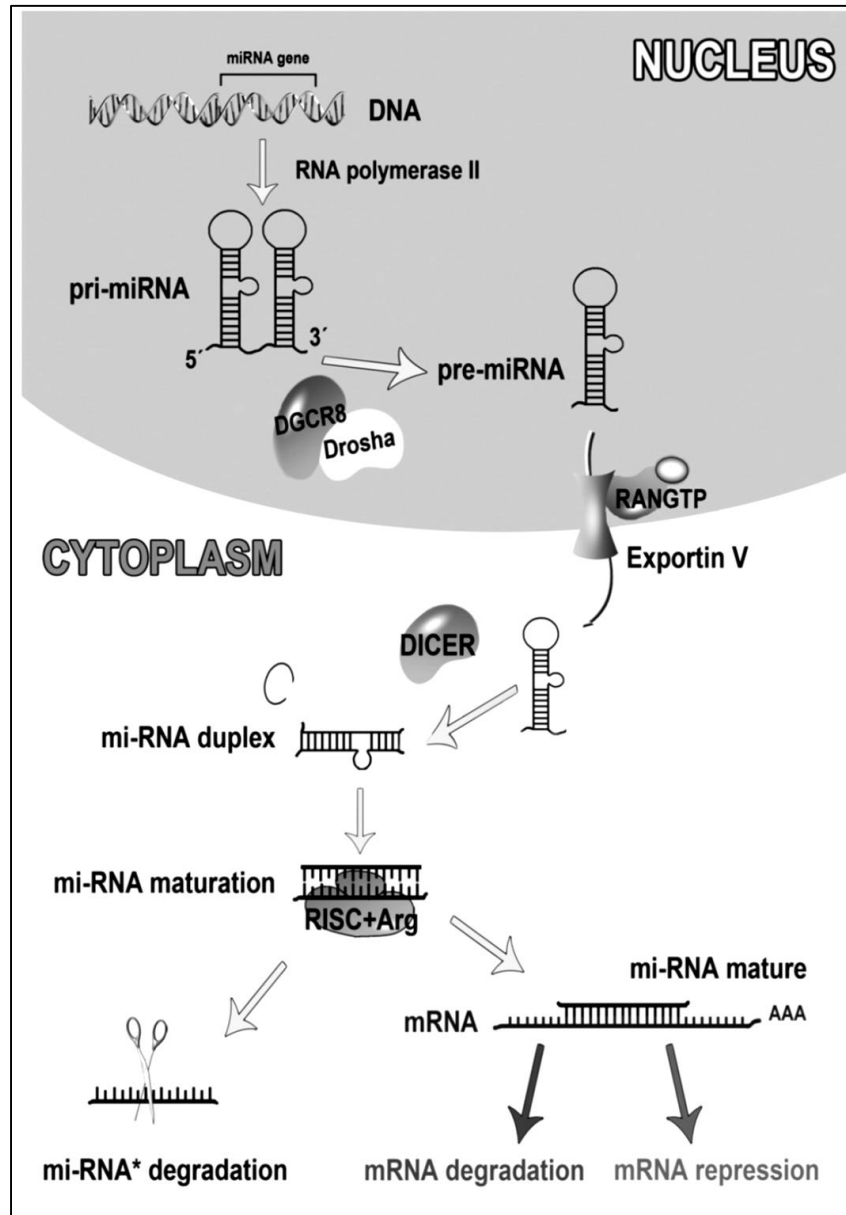


Figura 9. Biosíntesis de los microRNAs. Tomado de ⁽⁶²⁾

En humanos hay descritos hasta el momento entre 1200 y 1500 microRNAs, los cuales se estima que puedan estar regulando hasta una tercera parte de los genes del organismo. Un microRNA determinado puede tener varios genes diana, y a su vez cada gen puede ser diana de varios microRNAs, formando circuitos de regulación de alta complejidad.

Sin embargo, los microRNAs no ejercen su acción sólo a nivel intracelular; también existen a nivel extracelular y regulan las señales entre células. Se han descubierto en casi todos los fluidos celulares y existen en formas estables resistentes a las nucleasas ⁽⁶³⁾.

1.6.2. Micro-RNAs como biomarcadores

Los microRNAs son estables en el medio extracelular, y son detectables en sangre y otros fluidos. Los microRNAs circulantes están protegidos de las enzimas que los degradan ya sea porque se asocian con lipoproteínas (HDL) o complejos proteicos, o bien porque se encuentran dentro de vesículas, como micropartículas, exosomas o cuerpos apoptóticos

Un marcador ideal debería tener una serie de características: poder medirse de forma no invasiva, un alto grado de sensibilidad y especificidad, permitir la detección precoz, tener cambios dinámicos durante el curso de la enfermedad, larga vida media en la muestra y detección rápida y coste-efectiva en el laboratorio. Diversos microRNAs circulantes cumplen muchas de estas características.

Por este motivo se ha estudiado el potencial de los microRNAs como biomarcadores en diferentes enfermedades, entre ellas las cardiovasculares, con resultados prometedores, si bien aún sin estudios de grandes cohortes que lo validen.

Además el conocimiento de que determinados microRNAs se expresan específica y exclusivamente en un tejido, como por ejemplo el miocardio, o bien solamente en diferentes condiciones como un IAM y que esto pueda ser medido o detectado en muestras circulantes ha llevado a una intensa búsqueda de microRNAs que puedan ser utilizados como biomarcadores de diversas patologías, así como a evaluar su valor pronóstico .

A pesar de todos los avances y de algunos resultados alentadores sobre el uso de microRNAs circulantes como futuros biomarcadores, todavía es necesario resolver algunas cuestiones. La extracción de miRNAs extracelulares no es una tarea fácil, ya que se encuentran en cantidades relativamente bajas en la sangre. Además, la falta de normalizadores endógenos fiables dificulta la cuantificación específica de microRNAs circulantes. De momento, no existe un consenso en cuanto a la metodología a seguir, la obtención y preparación de las muestras y el método de cuantificación y normalización de los resultados. Por tanto, es necesaria la estandarización de protocolos para el desarrollo de microRNAs circulantes como nuevos biomarcadores.

Una limitación a tener en cuenta es la relacionada con la tecnología de la reacción en cadena de la polimerasa. Las secuencias de microRNAs son amplificadas utilizando oligonucleótidos específicos para pequeños ácidos nucleicos, lo cual puede llevar a artefactos si no se titulan de forma adecuada. Recientemente se está mejorando la precisión con la utilización de la reacción en cadena de la polimerasa digital ⁽⁶⁴⁾.

1.6.3. Perspectivas terapéuticas de los microRNAs.

Una de las características de los microRNAs que los hacen tan interesantes es la posibilidad de modificar de forma muy específica su expresión, lo que los hace una prometedora herramienta terapéutica. Numerosos modelos preclínicos han mostrado que la sobreexpresión o la inhibición de microRNAs pueden alterar las respuestas patológicas en las enfermedades cardiovasculares.

En caso de que se pretenda inhibir la acción de un microRNA se utilizan los llamados antimiRs, que son oligonucleótidos antisentido. Estas cadenas de nucleótidos pueden actuar inhibiendo la salida del pre-microRNA del núcleo, su transformación en microRNA maduro o uniéndose al microRNA e inactivándolo.

Para conseguir este efecto en vivo estos oligonucleótidos antimiR deben modificarse químicamente para mejorar su afinidad, estabilidad y propiedades farmacocinéticas ⁽⁶⁵⁾. Los antimiRs se han utilizado en numerosos estudios en animales para estudiar cuál es el efecto de la inhibición de un determinado microRNA.

Por el otro lado pueden utilizarse oligonucleótidos análogos a los microRNA (microRNA mimics) o pre-miRNAs que realicen la misma acción que los endógenos. Generalmente se utilizan oligonucleótidos de doble cadena en los que una de las cadenas es idéntica al microRNA en cuestión mientras la otra se modifica para que sea degradada rápidamente.

Para conseguir liberar los antimiRs y los microRNAs mimics se han utilizado varias estrategias. En primer lugar se han utilizado los virus como

vectores, especialmente en estudios experimentales; sin embargo, su uso en humanos está limitado por su poder inmunógeno y su toxicidad ⁽⁶⁶⁾.

Por ello se han desarrollado nuevos abordajes. La conjugación de los nucleótidos sintéticos con péptidos, anticuerpos u otras moléculas biológicas se ha probado en varios estudios animales. También se han combinado con liposomas o polímeros de nanopartículas que pueden atravesar la membrana. Sin embargo, estos abordajes parecen tener menor eficacia. Por otro lado, si bien los liposomas pueden utilizarse en los estudios in vitro, en vivo pueden presentar toxicidad hepática. ⁽⁶⁷⁾

1.6.4. MicroRNAs en el infarto agudo de miocardio.

1.6.4.1. MicroRNAs como marcadores en IAM.

Se han encontrado varios microRNAs que se expresan de forma diferencial y dinámica en el contexto del síndrome coronario agudo, postulándose como marcadores diagnósticos alternativos a los actuales.

Así, se han publicado numerosos estudios que muestran niveles elevados de diversos microRNAs en el contexto del IAM, que resumimos en la tabla 3.

Tabla 3: Micro-RNAs como marcadores en el infarto agudo de miocardio.

miRNA	Efecto	Aplicación
miR-208, 208a, 208b	Aumentados	Diagnóstico ⁽⁶⁸⁻⁷³⁾
miR-1	Aumentados	Diagnóstico ^(69, 71, 74-78)
miR-133	Aumentados	Diagnóstico ^(69, 72, 76, 78-80)
miR-499	Aumentados	Diagnóstico ^(68, 71, 72, 76, 78, 80, 81)
miR-30, miR-195	Aumentados	Diagnóstico ⁽⁸²⁾
miR-101, miR-150 ⁽⁸³⁾	Reducidos	Pronóstico. Riesgo de disfunción ventricular tras IAM
miR-16, miR-27a ⁽⁸³⁾ , miR-194, miR-192, miR-34a ⁽⁸⁴⁾	Aumentado	
miR-126	Reducidos	Diagnóstico ⁽⁷⁵⁾
miR-328, miR-134	Aumentados	Pronóstico. Mayor mortalidad e IC a los 6 meses. ⁽⁸⁵⁾
miR-34a, miR-192, miR-194	Aumentados	Predicción del desarrollo de insuficiencia cardíaca. ⁽⁸⁴⁾
miR-208 y miR-34a ⁽⁸⁶⁾ miR-150 ⁽⁸⁷⁾	Aumentados	Predicción del desarrollo de remodelado
miR-145 ⁽⁸⁸⁾ miR-155 y miR-380 ⁽⁸⁹⁾	Aumentados	Peor pronóstico al año

En resumen, varios miRnas son candidatos a poder ser utilizados como marcadores diagnósticos en el contexto del infarto agudo de miocardio. miR-1, miR-21, miR-133a, miR-208b y miR-499 son los más estudiados y los que ofrecen mejores resultados, si bien su superioridad con respecto a los marcadores actuales aún no está establecida. Además, algunos microRNAs se han relacionado con el pronóstico y la posibilidad de remodelado tras IAM.

1.6.4.2. Experimentos con micro-RNAs

Son numerosos los trabajos que han profundizado en los mecanismos moleculares mediante los cuales determinados microRNAs pueden proteger al corazón infartado. Los microRNAs participan en la modulación génica que ocurre en el corazón tras un fenómeno de isquemia-reperfusión, siendo puntos clave en los procesos de muerte celular, apoptosis, y más a largo plazo fibrosis e hipertrofia, responsables del remodelado cardiaco post-IAM.

Varios microRNAs tienen un papel muy importante en estos mecanismos protectores. En la tabla 4 resumimos alguno de estos trabajos.

Tabla 4: Experimentos con micro-RNAs en isquemia-reperfusión (90)

miRNA	Aproximación experimental	Especies	Efecto terapéutico
miR-15	anti-miRNA modificado: Locked nucleic acid (LNA)	Ratón y cerdo	Reducción del tamaño del infarto y el remodelado cardiaco posterior a IAM
miR-24	antagomiR modificado: 2'-O-methyl and 3'-cholesterol	Ratón	Reducción del tamaño del infarto, mejora de la vasculatura y los parámetros hemodinámicos tras daño isquémico
miR-320	AntagomiR	Ratón	Reducción del tamaño del infarto mediante regulación de Hsp20
miR-29b	miRNA mimics modificados: 2'-O-methyl y 3'-cholesterol	Ratón	Reducción de la fibrosis tras IAM
miR-590 miR199	Transfección con miR-590-3p and miR-199a-3p humanos	Ratón	Reducción del tamaño del infarto y mejora de la función cardiaca por estimulación de la proliferación de cardiomiocitos, disminución del remodelado cardiaco, hipertrofia y fibrosis.
miR-208a	anti-miRNA modificado LNA	Ratas Dahl	Reducción del remodelado y mejora de la función cardiaca
miR-212 miR-132	ratón knockout miR-212/132	Ratón	Protección frente al remodelado adverso inducido por sobrecarga vía TAC
miR-133	antagomiR-133	Ratón	Inducción de una hipertrofia cardiaca sostenida
miR-21	antagomiR modificado: 2'-O-methyl and 3'-cholesterol	Ratón	Reducción de la fibrosis, y mejora de la función cardiaca
miR-21	anti-miRNA modificado: LNA	Ratón	Fallo en el bloqueo del remodelado ventricular en respuesta al estrés
miR-92a	antagomiR modificado: 2'-O-methyl and 3'-cholesterol	Ratón	Crecimiento de vasos y recuperación funcional del tejido isquémico
miR-24	antagomiR modificado: 2'-O-methyl and 3'-cholesterol	Ratón	Disminución de la apoptosis del endotelio y mejora de la vascularización después de IAM
miR-155	anti-miRNA modificado: LNA	Ratón	Disminución de la infiltración y activación de linfocitos T con reducción del daño miocárdico

2. HIPÓTESIS

A pesar de una exitosa terapia de reperfusión y de los tratamientos farmacológicos actuales, el 20% de los pacientes que sufren un IAM desarrollan un proceso de remodelado adverso, con una dilatación ventricular progresiva, inicialmente compensatoria, posteriormente no compensatoria y finalmente disfunción ventricular severa.

La magnitud del remodelado se correlaciona fuertemente con el tamaño del infarto y su localización, siendo más frecuente en los infartos anteriores. Por ello son fundamentales los esfuerzos para reducir la masa miocárdica necrótica, mejorando las estrategias de reperfusión y reduciendo al máximo los tiempos hasta su aplicación.

Sin embargo, si bien la reperfusión, ya sea mediante angioplastia primaria o mediante fibrinólisis, es el tratamiento estándar del SCACEST, esta restauración del flujo produce un daño adicional sobre el miocardio por el proceso de isquemia-reperfusión, y que es responsable de un porcentaje del tamaño final del infarto.

De momento, y a pesar del mejor conocimiento de la fisiopatología, de los resultados alentadores en ensayos realizados en laboratorio con modelos de isquemia-reperfusión y los de algunos ensayos de pequeño tamaño, ningún tratamiento ha logrado resultados positivos en ensayos de mayor tamaño con humanos, por lo que no existe ningún tratamiento que haya mostrado reducir el daño por reperfusión.

Por otro lado, los microRNAs se están desarrollando en el campo del infarto agudo de miocárdico como marcadores diagnósticos en fase aguda,

investigándose también su valor pronóstico. Además, se está describiendo que los microRNAs juegan un papel regulador en los procesos patológicos que suceden al infarto de miocardio, pudiendo algunos de ellos proteger al corazón infartado. Dado que se está desarrollando tecnología que permite inhibir la acción de un determinado miRNA (anti-miRs) o aumentarla (microRNAs mimics), de momento en modelos animales, es fundamental describir posibles dianas que nos permitan reducir mediante su modulación el tamaño final del infarto y el proceso de remodelado.

La mayoría de estudios que describen la liberación de microRNAs en el IAM en humanos proceden de estudios con diferentes estrategias de tratamiento de reperfusión, tiempo de isquemia y localizaciones, sin ser de momento posible aplicar tratamiento que los modifiquen, por lo que en la actualidad sólo se han estudiado en humanos su papel como marcadores diagnósticos y pronósticos.

En nuestro estudio planteamos estudiar la liberación de miRNA en una muestra homogénea de infartos anteriores sometidos a angioplastia primaria que se aproxime a un modelo experimental de isquemia-reperfusión, intentando identificar posibles nuevos marcadores del proceso de daño por reperfusión que deberían confirmarse en estudios a mayor escala.

La realización de una curva temporal de expresión de los microRNAs más relevantes permitiría determinar el mejor momento para el análisis de dichos microRNAs en la práctica clínica y en estudios posteriores

El seguimiento ecocardiográfico y mediante resonancia magnética de los pacientes a largo plazo, permitirá relacionar los niveles de expresión en agudo

de dichos microRNAs con los diferentes parámetros de función ventricular, de modo que puedan ser usados como biomarcador del remodelado ventricular.

3. OBJETIVOS

1. Identificar qué microRNAs se liberan durante la fase aguda del infarto agudo de miocardio sometido a angioplastia primaria.

2. Determinar su cinética de liberación para determinar el momento mejor para su extracción en estudios posteriores.

3. Valorar cuáles de estos microRNAs se liberan como consecuencia del proceso de isquemia-necrosis y del proceso de revascularización (daño por reperfusión).

4. Valorar qué microRNAs se pueden correlacionar con el proceso de remodelado ventricular

4. METODOLOGÍA

4.1. PROTOCOLO DE ESTUDIO

Realizamos un estudio prospectivo en el que comparamos los niveles de microRNAs en pacientes con infarto agudo de miocardio sometidos a angioplastia primaria frente a controles, utilizando para ello pacientes controles sometidos a coronariografía por dolor torácico y que no presentaban lesiones coronarias. Los pacientes procedían de dos centros: Hospital Virgen del Rocío de Sevilla y Hospital Virgen de la Victoria de Málaga.

El estudio fue autorizado por el Comité de Ética e Investigación Sanitaria del Hospital Virgen del Rocío. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado antes de la inclusión en el estudio.

Los criterios de inclusión de los pacientes, con objeto de que la muestra fuese lo más homogénea posible fueron:

- Edad < 75 años.
- IAM de localización anterior de 2 a 6 horas de evolución en el momento de empezar la coronariografía.
- Flujo TIMI 0 en la arteria responsable del infarto en la coronariografía diagnóstica.

Los criterios de exclusión fueron:

- Historia previa de cardiopatía isquémica.
- Negativa a participar en el estudio por el paciente.
- Insuficiencia renal con filtrado glomerular menor de 30 ml/min.

Se recogieron las características demográficas y clínicas de los pacientes incluidos en el estudio, así como el tiempo de evolución de los síntomas y los tratamientos administrados.

La coronariografía se realizó según el protocolo habitual, a discreción del operador. Tras el acceso arterial (radial en todos los casos) se realizó coronariografía, identificación de la arteria responsable del infarto (por protocolo, la arteria descendente anterior) y confirmación de que presentaba flujo inicial TIMI 0. Tras ello se realizó a criterio del operador tromboaspiración e implante de uno o varios stents en la arteria responsable del infarto. Se registró la presencia de fenómeno de slow-flow y non-reflow durante el procedimiento y el flujo TIMI final. En caso de presentar lesiones en otras coronarias se abordaron en un segundo procedimiento.

A todos los pacientes se les extrajo una muestra de sangre periférica justo antes de empezar el cateterismo. Dichas muestras incluyeron un tubo de suero de tapón amarillo para la determinación de los microRNAs, que se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 minutos y se almacenaron a 4 °C para su posterior análisis en el IBIS (Instituto de Biomedicina de Sevilla), así como muestras para los análisis habituales en el contexto del IAM (hemograma, creatinina, urea, sodio, potasio, CPK y troponina), que se analizaron en el laboratorio del Hospital de referencia del paciente. En el caso de la troponina, se determinó Troponina T ultrasensible en pacientes del Hospital Virgen del Rocío y Troponina I en los pacientes del Hospital Virgen de la Victoria, expresándose los resultados como múltiplos del percentil 99 para cada centro.

Asimismo, se extrajeron muestras adicionales de sangre durante el ingreso según el siguiente cronograma (Figura 10):

- 3 horas tras la apertura del vaso: muestras para microRNAs, Tn y CPK
- 12 horas tras la apertura del vaso: muestras para microRNAs, Tn y CPK
- A las 24 horas: muestras para microRNAs, TnT US, CPK, NT-pro-BNP y perfiles bioquímicos.

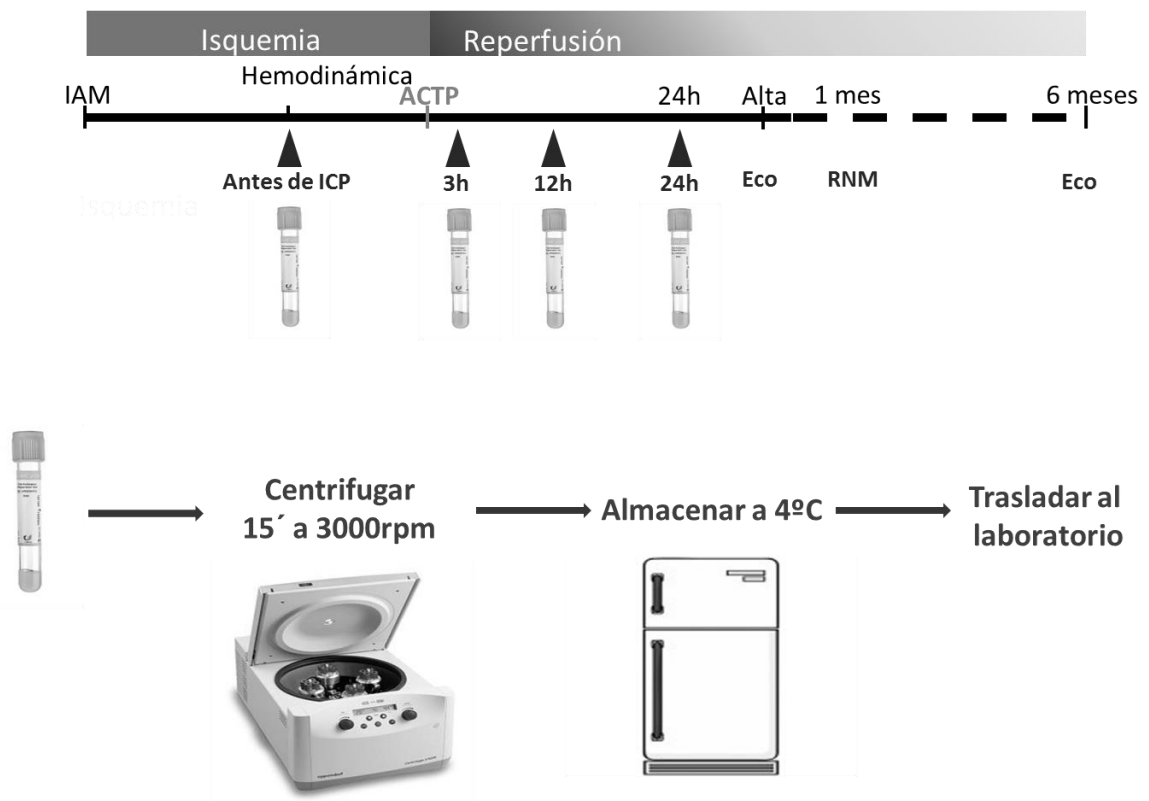


Figura 10: Cronograma de extracción de muestras.

Antes del alta hospitalaria se realizó una ecocardiografía transtorácica, con utilización en caso necesario de contraste intravenoso (SonoVue®, Rovi), previa obtención del consentimiento informado, en la que se determinaron:

- Diámetro y volúmenes ventriculares.
- Función sistólica del ventrículo izquierdo (fracción de eyección)

A las 4 semanas del infarto se realizó una resonancia nuclear magnética con gadolinio para determinar la necrosis miocárdica. Para dicha prueba se realizó la firma del correspondiente consentimiento informado. Se analizaron:

- Volúmenes ventriculares.
- Función sistólica
- Extensión cualitativa de la necrosis miocárdica

A los 6 meses del infarto se llevó a cabo una visita de seguimiento, en la que se realizó nuevamente un ecocardiograma transtorácico con determinación de los mismos parámetros para valorar presencia de remodelado. En nuestro estudio definimos la presencia de remodelado como el aumento del VTDVI en el ecocardiograma realizado a los 6 meses con respecto al basal sin mejoría de la función sistólica o con empeoramiento de la función sistólica.

4.2. TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR PARA LA DETERMINACIÓN DE MICRO-RNAS.

Las muestras de suero fueron recogidas por personal del laboratorio de fisiopatología cardiovascular del IBIS, se alicuotaron y almacenaron a -80°C hasta el momento de su análisis.

Se extrajo el RNA total de las diferentes muestras de suero mediante una extracción con trizol y purificación en las columnas miRNeasy de Qiagen que garantizan la obtención del RNA total, incluidos los RNAs de pequeño tamaño. Se comprobó la concentración y calidad de las muestras de RNA mediante NanoDrop.

La determinación del perfil de expresión de los microRNAs presentes en el suero de pacientes se realizó usando las muestras pertenecientes al punto de recogida de las 3 horas después de la angioplastia primaria, así como al inicio de la coronariografía en los controles sanos. Para ello se realizó una retrotranscripción masiva de todos los microRNAs humanos usando el kit “Megaplex Primer Pools, Human Pools A v2.1” de Applied biosystems y se realizó un array de expresión de los 384 microRNAs humanos más relevantes cuya referencia es “TaqMan® Array Human MicroRNA A Cards v2.0 4” de Applied Biosystems. Los microRNAs analizados se detallan en la Figura 11.

TaqMan® Human MicroRNA Array A

Port	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
A	hsa-let-7a	hsa-let-7c	hsa-let-7f	hsa-let-7g	hsa-let-7i	hsa-let-7j	hsa-let-7k	hsa-let-7l	hsa-let-7m	hsa-let-7n	hsa-let-7o	hsa-let-7p	hsa-let-7q	hsa-let-7r	hsa-let-7s	hsa-let-7t	hsa-let-7u	hsa-let-7v	hsa-let-7w	hsa-let-7x	hsa-let-7y	hsa-let-7z	hsa-miR-1	hsa-miR-2
B	hsa-miR-21	hsa-miR-22	hsa-miR-23	hsa-miR-24	hsa-miR-25	hsa-miR-26	hsa-miR-27	hsa-miR-28	hsa-miR-29	hsa-miR-30	hsa-miR-31	hsa-miR-32	hsa-miR-33	hsa-miR-34	hsa-miR-35	hsa-miR-36	hsa-miR-37	hsa-miR-38	hsa-miR-39	hsa-miR-40	hsa-miR-41	hsa-miR-42	hsa-miR-43	hsa-miR-44
C	hsa-miR-45	hsa-miR-46	hsa-miR-47	hsa-miR-48	hsa-miR-49	hsa-miR-50	hsa-miR-51	hsa-miR-52	hsa-miR-53	hsa-miR-54	hsa-miR-55	hsa-miR-56	hsa-miR-57	hsa-miR-58	hsa-miR-59	hsa-miR-60	hsa-miR-61	hsa-miR-62	hsa-miR-63	hsa-miR-64	hsa-miR-65	hsa-miR-66	hsa-miR-67	hsa-miR-68
D	hsa-miR-69	hsa-miR-70	hsa-miR-71	hsa-miR-72	hsa-miR-73	hsa-miR-74	hsa-miR-75	hsa-miR-76	hsa-miR-77	hsa-miR-78	hsa-miR-79	hsa-miR-80	hsa-miR-81	hsa-miR-82	hsa-miR-83	hsa-miR-84	hsa-miR-85	hsa-miR-86	hsa-miR-87	hsa-miR-88	hsa-miR-89	hsa-miR-90	hsa-miR-91	hsa-miR-92
E	hsa-miR-93	hsa-miR-94	hsa-miR-95	hsa-miR-96	hsa-miR-97	hsa-miR-98	hsa-miR-99	hsa-miR-100	hsa-miR-101	hsa-miR-102	hsa-miR-103	hsa-miR-104	hsa-miR-105	hsa-miR-106	hsa-miR-107	hsa-miR-108	hsa-miR-109	hsa-miR-110	hsa-miR-111	hsa-miR-112	hsa-miR-113	hsa-miR-114	hsa-miR-115	hsa-miR-116
F	hsa-miR-117	hsa-miR-118	hsa-miR-119	hsa-miR-120	hsa-miR-121	hsa-miR-122	hsa-miR-123	hsa-miR-124	hsa-miR-125	hsa-miR-126	hsa-miR-127	hsa-miR-128	hsa-miR-129	hsa-miR-130	hsa-miR-131	hsa-miR-132	hsa-miR-133	hsa-miR-134	hsa-miR-135	hsa-miR-136	hsa-miR-137	hsa-miR-138	hsa-miR-139	hsa-miR-140
G	hsa-miR-141	hsa-miR-142	hsa-miR-143	hsa-miR-144	hsa-miR-145	hsa-miR-146	hsa-miR-147	hsa-miR-148	hsa-miR-149	hsa-miR-150	hsa-miR-151	hsa-miR-152	hsa-miR-153	hsa-miR-154	hsa-miR-155	hsa-miR-156	hsa-miR-157	hsa-miR-158	hsa-miR-159	hsa-miR-160	hsa-miR-161	hsa-miR-162	hsa-miR-163	hsa-miR-164
H	hsa-miR-165	hsa-miR-166	hsa-miR-167	hsa-miR-168	hsa-miR-169	hsa-miR-170	hsa-miR-171	hsa-miR-172	hsa-miR-173	hsa-miR-174	hsa-miR-175	hsa-miR-176	hsa-miR-177	hsa-miR-178	hsa-miR-179	hsa-miR-180	hsa-miR-181	hsa-miR-182	hsa-miR-183	hsa-miR-184	hsa-miR-185	hsa-miR-186	hsa-miR-187	hsa-miR-188
I	hsa-miR-189	hsa-miR-190	hsa-miR-191	hsa-miR-192	hsa-miR-193	hsa-miR-194	hsa-miR-195	hsa-miR-196	hsa-miR-197	hsa-miR-198	hsa-miR-199	hsa-miR-200	hsa-miR-201	hsa-miR-202	hsa-miR-203	hsa-miR-204	hsa-miR-205	hsa-miR-206	hsa-miR-207	hsa-miR-208	hsa-miR-209	hsa-miR-210	hsa-miR-211	hsa-miR-212
J	hsa-miR-213	hsa-miR-214	hsa-miR-215	hsa-miR-216	hsa-miR-217	hsa-miR-218	hsa-miR-219	hsa-miR-220	hsa-miR-221	hsa-miR-222	hsa-miR-223	hsa-miR-224	hsa-miR-225	hsa-miR-226	hsa-miR-227	hsa-miR-228	hsa-miR-229	hsa-miR-230	hsa-miR-231	hsa-miR-232	hsa-miR-233	hsa-miR-234	hsa-miR-235	hsa-miR-236
K	hsa-miR-237	hsa-miR-238	hsa-miR-239	hsa-miR-240	hsa-miR-241	hsa-miR-242	hsa-miR-243	hsa-miR-244	hsa-miR-245	hsa-miR-246	hsa-miR-247	hsa-miR-248	hsa-miR-249	hsa-miR-250	hsa-miR-251	hsa-miR-252	hsa-miR-253	hsa-miR-254	hsa-miR-255	hsa-miR-256	hsa-miR-257	hsa-miR-258	hsa-miR-259	hsa-miR-260
L	hsa-miR-261	hsa-miR-262	hsa-miR-263	hsa-miR-264	hsa-miR-265	hsa-miR-266	hsa-miR-267	hsa-miR-268	hsa-miR-269	hsa-miR-270	hsa-miR-271	hsa-miR-272	hsa-miR-273	hsa-miR-274	hsa-miR-275	hsa-miR-276	hsa-miR-277	hsa-miR-278	hsa-miR-279	hsa-miR-280	hsa-miR-281	hsa-miR-282	hsa-miR-283	hsa-miR-284
M	hsa-miR-285	hsa-miR-286	hsa-miR-287	hsa-miR-288	hsa-miR-289	hsa-miR-290	hsa-miR-291	hsa-miR-292	hsa-miR-293	hsa-miR-294	hsa-miR-295	hsa-miR-296	hsa-miR-297	hsa-miR-298	hsa-miR-299	hsa-miR-300	hsa-miR-301	hsa-miR-302	hsa-miR-303	hsa-miR-304	hsa-miR-305	hsa-miR-306	hsa-miR-307	hsa-miR-308
N	hsa-miR-309	hsa-miR-310	hsa-miR-311	hsa-miR-312	hsa-miR-313	hsa-miR-314	hsa-miR-315	hsa-miR-316	hsa-miR-317	hsa-miR-318	hsa-miR-319	hsa-miR-320	hsa-miR-321	hsa-miR-322	hsa-miR-323	hsa-miR-324	hsa-miR-325	hsa-miR-326	hsa-miR-327	hsa-miR-328	hsa-miR-329	hsa-miR-330	hsa-miR-331	hsa-miR-332
O	hsa-miR-333	hsa-miR-334	hsa-miR-335	hsa-miR-336	hsa-miR-337	hsa-miR-338	hsa-miR-339	hsa-miR-340	hsa-miR-341	hsa-miR-342	hsa-miR-343	hsa-miR-344	hsa-miR-345	hsa-miR-346	hsa-miR-347	hsa-miR-348	hsa-miR-349	hsa-miR-350	hsa-miR-351	hsa-miR-352	hsa-miR-353	hsa-miR-354	hsa-miR-355	hsa-miR-356
P	hsa-miR-357	hsa-miR-358	hsa-miR-359	hsa-miR-360	hsa-miR-361	hsa-miR-362	hsa-miR-363	hsa-miR-364	hsa-miR-365	hsa-miR-366	hsa-miR-367	hsa-miR-368	hsa-miR-369	hsa-miR-370	hsa-miR-371	hsa-miR-372	hsa-miR-373	hsa-miR-374	hsa-miR-375	hsa-miR-376	hsa-miR-377	hsa-miR-378	hsa-miR-379	hsa-miR-380

Figura 11: micro-RNAs analizados mediante el TaqMan® Array Human MicroRNA A Cards v2.0 4

Posteriormente se seleccionaron los microRNAs con mayor tasa de cambio respecto a los controles y se realizó su cuantificación individual en el resto de puntos recogidos. Para esto cada microRNA se cuantificó mediante qRT-PCR utilizando la tecnología “Taqman microRNA assay”. Brevemente, un total de 50 ng de RNA se transcribe a cDNA mediante un “primer-RT” específico para cada microRNA y después se realiza la amplificación y detección de la señal producida por una sonda que se une al fragmento amplificado de manera específica. Los datos se normalizan evaluando la expresión de U6 (un pequeño RNA nuclear) en cada muestra. Para estos experimentos se utilizó un termociclador Stratagene MX3005P.

4.3. ANÁLISIS DE DATOS

Cada experimento fue repetido al menos 6 veces y los datos fueron normalizados con respecto al resultado en los controles (designado como 100%).

Se determinó qué microRNAs seguían una distribución normal entre los pacientes. En caso de que en todos los puntos temporales las muestras de un determinado microRNA siguieran una distribución sin diferencias significativas con respecto a la distribución normal se expresaron los resultados como media y desviación estándar y se analizaron las diferencias entre el grupo control y los valores en los pacientes para cada punto horario mediante la prueba T para la igualdad de medias, y las curvas obtenidas mediante el modelo lineal general para muestras repetidas, utilizando el test de Bonferroni para el análisis post-hoc de las diferencias entre los diferentes puntos temporales.

En caso de que alguno en algunos de los puntos temporales para un microRNA la muestra difiriera significativamente de una distribución normal, se expresaron los datos como mediana y rango intercuartílico, utilizando el test de no paramétrico de la U de Mann-Whitney para comparar los controles con los datos de los pacientes y el test no paramétrico de Friedman para valorar diferencias entre las muestras de los pacientes con respecto al tiempo.

Se utilizó para el análisis el sistema sistema SPSS (Statistical Package for Social Sciences), versión 19.0 (SPSS Inc, Chicago, IL) para Windows.

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y VARIABLES CLÍNICAS

Desde septiembre de 2013 a octubre de 2014 se incluyeron 8 pacientes con infarto agudo de miocardio sometidos a angioplastia primaria, así como 8 controles. 6 pacientes y 8 controles procedían del Hospital Virgen del Rocío de Sevilla y 2 pacientes del Hospital Virgen de la Victoria de Málaga.

Las características basales de los casos y controles se resumen en la tabla 5:

Tabla 5: Características basales de los pacientes.

	Casos	Controles	Significación (p)
Edad (x̄; SD)	54,38;7,96	62,33;12,43	0,143
Sexo varón	7/8 (87,5 %)	3/9 (33,3 %)	0,024
Hipertensión	5/8 (62,5%)	4/9 (44,4 %)	0,457
Diabetes	1/8 (12,5 %)	1/9 (11,1 %)	0,929
Dislipemia	2/8 (25 %)	5/9 (55,6 %)	0,201
Fumador	2/8 (25 %)	4/9 (44,4%)	0,402
Antecedentes familiares	1/8 (12,5 %)	2/7 (28,6 %)	0,438

En relación a los casos, los controles fueron mayoritariamente mujeres, con diferencias significativas, mostrando asimismo una tendencia a una mayor edad, mayor porcentaje de hipertensión y menor proporción de tabaquismo y dislipemia. Esta diferencia concuerda con las diferentes poblaciones de origen: de un lado, pacientes con dolor torácico y coronarias normales y por otro, pacientes con infarto.

Las características clínicas de los pacientes sometidos a angioplastia primaria se detallan en la tabla 6:

Tabla 6: Características clínicas de los pacientes con IAM.

Paciente	Edad	Sexo	Tiempo de isquemia	HTA	DM	Dislipemia	Fumador	Antecedentes familiares	Segmento ADA	TIMI inicial	Non reflow	TIMI_final	Stents	Tipo stents
1	61	Varón	188	Sí	No	Sí	No	No	DA media	0	No	3	1	Convencional
2	62	Varón	155	Sí	ADO	Sí	No	No	DA proximal	0	No	2	2	Liberador
3	59	Mujer	175	Sí	No	No	No	No	DA media	0	No	3	2	Liberador
4	43	Varón	246	No	No	No	No	No	DA media	0	No	3	1	Liberador
5	59	Varón	146	Sí	No	No	No	No	DA proximal	0	Sí	3	1	Liberador
6	48	Varón	242	No	No	No	Sí	No	DA proximal	0	No	3	1	Liberador
7	44	Varón	200	No	No	No	No	Sí	DA media	0	No	3	1	Liberador
8	59	Varón	120	Sí	No	No	Sí	No	DA media	0	No	3	1	Convencional

Paciente	CPK pico	Tn pico	NT-proBNP	DTDVI basal	DTDVI 6m	VTDVI basal	VTDVI 6m	FE basal	FE 6m	VTD RNM	VTS RNM	FERNM	Remodelado
1	4798	338		51	53	84	120	46	40	164	90	45	Sí
2	3058	404	1444	49		90	129	44	47	177	90	49	Sí
3	1306	73	1302	38	44	77	81	53	52	99	36	63	No
4	4121	146	1053	48	54	126	167	47	47	200	101	49	Sí
5	10206	288	1708	46	62	149	164	38	38	226	133	41	Sí
6	2769	134	1199	50	55	116	145	42	53				No
7	1414	272	329		54		98	48	59	148	49	66	No
8		129	2619	55	52	148	118	50	54	154	55	63	No

Como observamos, 4 pacientes desarrollaron remodelado durante el seguimiento con disfunción sistólica a los 6 meses y 4 no lo hicieron. Un único paciente tuvo durante la angioplastia un fenómeno de non-reflow que precisó tratamiento farmacológico para su resolución.

5.2. ANÁLISIS DE MICRORNAS FRENTE A CONTROLES

En una primera fase se intentó escoger los 20 microRNAs a los que posteriormente se realizarían las curvas de liberación utilizando los diferentes puntos horarios. Para ello se compararon los datos de las muestras obtenidas de los pacientes a las 3 horas de la apertura del vaso con respecto a 3 controles. Para ello fue necesario referir los resultados a controles endógenos. Estos controles endógenos son genes que están presentes en todas las muestras del estudio con unos niveles de expresión uniforme, y que se emplean como referencia activa para la normalización. En nuestro caso utilizamos varios controles endógenos (U6-snRNA, miR-126, miR-222, miR-24, miR-191 y miR-146a).

En función de los endógenos escogidos se obtenían diferentes perfiles de expresión de los diferentes microRNAs. Un ejemplo de estos perfiles de expresión se expone en la figura 12, obteniendo un diagrama de puntos en el que el eje de ordenadas representa la magnitud de la diferencia entre los valores y el de ordenadas la significación estadística de esta variación.

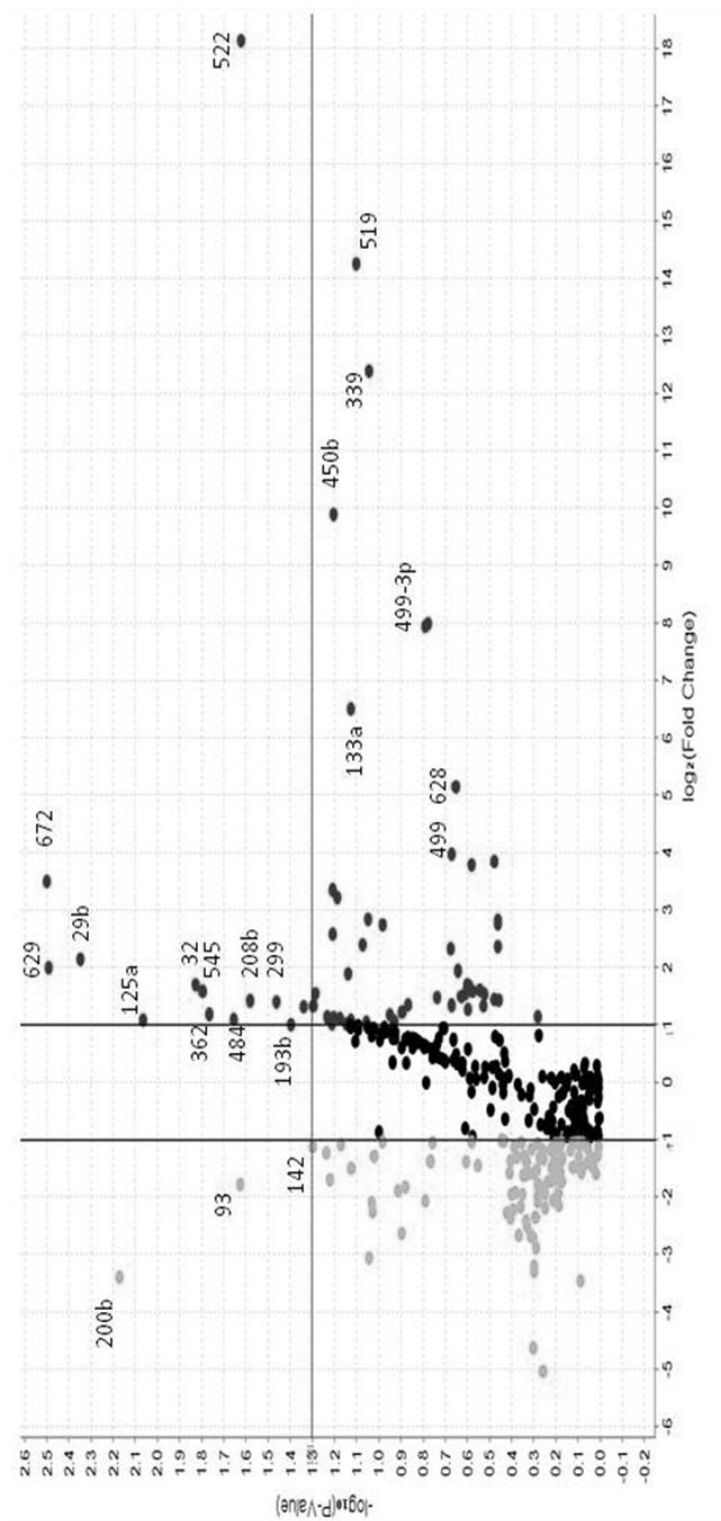


Figura 12: Perfil de expresión de microRNAs circulantes en pacientes con IAMCEST tratados con ICP comparado con controles

Los microRNAs se han alineado según el nivel de cambio de expresión y el pValue resultante de comparar el grupo de pacientes (n8) y controles (n3).

Tras este proceso se seleccionaron 8 micro-RNAs en función de la consistencia de los resultados entre los diferentes experimentos realizados con diferentes endógenos. Asimismo, se decidió además incluir otros 12 microRNAs aunque los resultados en nuestra muestra no hubiesen sido significativos por sus resultados publicados previamente. Estos microRNAs se detallan en la tabla 7.

Tabla 7: microRNAs seleccionados para la realización de curvas.

Por nuestros resultados	Por bibliografía
miR-193b	miR-1
miR-200b	miR-21
miR-339-3p	miR-29a
miR-339-5p	miR-29b
miR-484	miR-125
miR-519a	miR-133a
miR-522	miR-133b
miR-545	miR-208
	miR-320
	miR-324
	miR-423-5p
	miR-499

5.3. CURVAS DE LIBERACIÓN DE MICRORNAS

Tras ello se determinaron los valores de estos 20 microRNAs en las todas las muestras procedentes de los 8 pacientes (0, 3, 12 y 24 horas) y en las de los 8 controles. Los valores medios de estos controles se utilizaron como valor de referencia para determinar los valores en los pacientes y realizar las curvas y análisis posteriores.

Con objeto de determinar qué microRNAs seguían una distribución normal aplicamos inicialmente los test de normalidad, cuyos resultados se expresan en la tabla 8.

Tabla 8: Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
mir_1_0	,200	7	,200 [*]	,962	7	,839
mir_1_3	,256	7	,184	,932	7	,564
mir_1_12	,324	7	,025	,762	7	,017
mir_1_24	,170	7	,200 [*]	,956	7	,786
mir_21_0	,237	7	,200 [*]	,874	7	,201
mir_21_3	,166	7	,200 [*]	,940	7	,635
mir_21_12	,187	7	,200 [*]	,930	7	,549
mir_21_24	,174	7	,200 [*]	,956	7	,786
mir_29a_0	,192	7	,200 [*]	,929	7	,546
mir_29a_3	,195	7	,200 [*]	,923	7	,495
mir_29a_12	,171	7	,200 [*]	,928	7	,531
mir_29a_24	,197	7	,200 [*]	,885	7	,251
mir_29b_0	,258	7	,177	,871	7	,188
mir_29b_3	,152	7	,200 [*]	,965	7	,861
mir_29b_12	,252	7	,200 [*]	,850	7	,123
mir_29b_24	,199	7	,200 [*]	,867	7	,174
mir_125a_3p_0	,320	7	,029	,879	7	,224
mir_125a_3p_3	,158	7	,200 [*]	,943	7	,663
mir_125a_3p_12	,216	7	,200 [*]	,905	7	,361
mir_125a_3p_24	,171	7	,200 [*]	,930	7	,549
mir_133a_0	,212	7	,200 [*]	,965	7	,859
mir_133a_3	,220	7	,200 [*]	,938	7	,617
mir_133a_12	,213	7	,200 [*]	,898	7	,318
mir_133a_24	,161	7	,200 [*]	,972	7	,914
mir_133b_0	,192	7	,200 [*]	,949	7	,724
mir_133b_3	,320	7	,029	,808	7	,049
mir_133b_12	,151	7	,200 [*]	,979	7	,954
mir_133b_24	,163	7	,200 [*]	,958	7	,801
mir_193b_0	,231	7	,200 [*]	,924	7	,502
mir_193b_3	,186	7	,200 [*]	,947	7	,705
mir_193_12	,250	7	,200[*]	,807	7	,048
mir_193_24	,190	7	,200 [*]	,959	7	,814
mir_200b_0	,218	7	,200 [*]	,920	7	,468
mir_200b_3	,381	7	,003	,731	7	,008
mir_200b_12	,228	7	,200 [*]	,893	7	,293

mir_200b_24	,197	7	,200 [†]	,932	7	,565
mir_208_0	,200	7	,200 [†]	,885	7	,250
mir_208_3	,246	7	,200 [†]	,907	7	,379
mir_208_12	,180	7	,200 [†]	,926	7	,516
mir_208_24	,151	7	,200 [†]	,926	7	,515
mir_320_0	,209	7	,200 [†]	,955	7	,778
mir_320_3	,213	7	,200 [†]	,873	7	,198
mir_320_12	,153	7	,200 [†]	,953	7	,754
mir_320_24	,204	7	,200 [†]	,964	7	,852
mir_324_3p_0	,226	7	,200 [†]	,929	7	,539
mir_324_3p_3	,219	7	,200 [†]	,897	7	,310
mir_324_3p_12	,169	7	,200 [†]	,937	7	,613
mir_324_3p_24	,245	7	,200 [†]	,826	7	,073
mir_339_3p_0	,199	7	,200 [†]	,856	7	,140
mir_339_3p_3	,214	7	,200 [†]	,912	7	,411
mir_339_3p_12	,329	7	,021	,785	7	,029
mir_339_3p_24	,185	7	,200 [†]	,979	7	,955
mir_339_5p_0	,174	7	,200 [†]	,974	7	,923
mir_339_5p_3	,175	7	,200 [†]	,936	7	,606
mir_339_5p_12	,192	7	,200 [†]	,972	7	,909
mir_339_5p_24	,229	7	,200 [†]	,857	7	,143
mir_423_5p_0	,239	7	,200 [†]	,930	7	,551
mir_423_5p_3	,209	7	,200 [†]	,929	7	,540
mir_423_5p_12	,169	7	,200 [†]	,953	7	,761
mir_423_5p_24	,254	7	,193	,918	7	,452
mir_484_0	,195	7	,200 [†]	,975	7	,932
mir_484_3	,208	7	,200 [†]	,928	7	,534
mir_484_12	,218	7	,200 [†]	,897	7	,313
mir_484_24	,189	7	,200 [†]	,955	7	,778
mir_499_0	,164	7	,200 [†]	,936	7	,600
mir_499_3	,158	7	,200 [†]	,985	7	,979
mir_499_12	,177	7	,200 [†]	,954	7	,764
mir_499_24	,241	7	,200 [†]	,913	7	,415
mir_519_0	,218	7	,200 [†]	,880	7	,225
mir_519_3	,241	7	,200 [†]	,874	7	,201
mir_519_12	,164	7	,200 [†]	,929	7	,542
mir_519_24	,190	7	,200 [†]	,929	7	,541
mir_522_0	,281	7	,102	,842	7	,104
mir_522_3	,177	7	,200 [†]	,953	7	,755
mir_522_12	,240	7	,200 [†]	,850	7	,123
mir_522_24	,300	7	,056	,790	7	,033
mir_545_0	,237	7	,200 [†]	,880	7	,227
mir_545_3	,208	7	,200 [†]	,934	7	,583
mir_545_12	,363	7	,006	,764	7	,018
mir_545_24	,252	7	,199	,877	7	,215

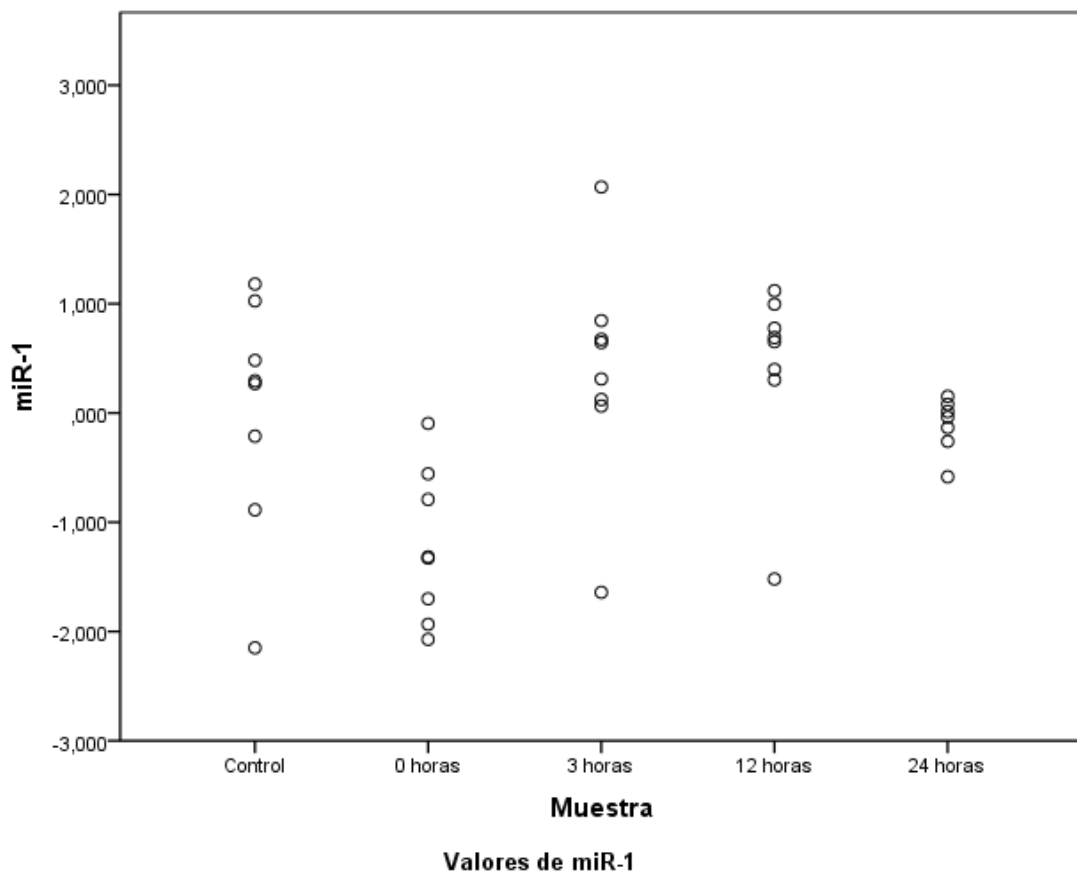
Analizamos a continuación los resultados obtenidos con los 20 microRNAs escogidos para la realización de las curvas. Para cada uno se exponen los valores de centralización y dispersión en cada punto temporal, el diagrama de dispersión y, en función de los casos, el diagrama de cajas para variables no normales o el gráfico de barras de error para las normales. Posteriormente, los test de contraste de hipótesis, tanto entre los controles y las muestras de los pacientes (prueba T para igualdad de medias o U de Mann-Whitney), como el modelo lineal general para muestras repetidas o el test no paramétrico de comparación entre muestras de Friedman para determinar si había diferencias significativas entre las muestras obtenidas al iniciar el cateterismo, a las 3 horas y a las 12 horas.

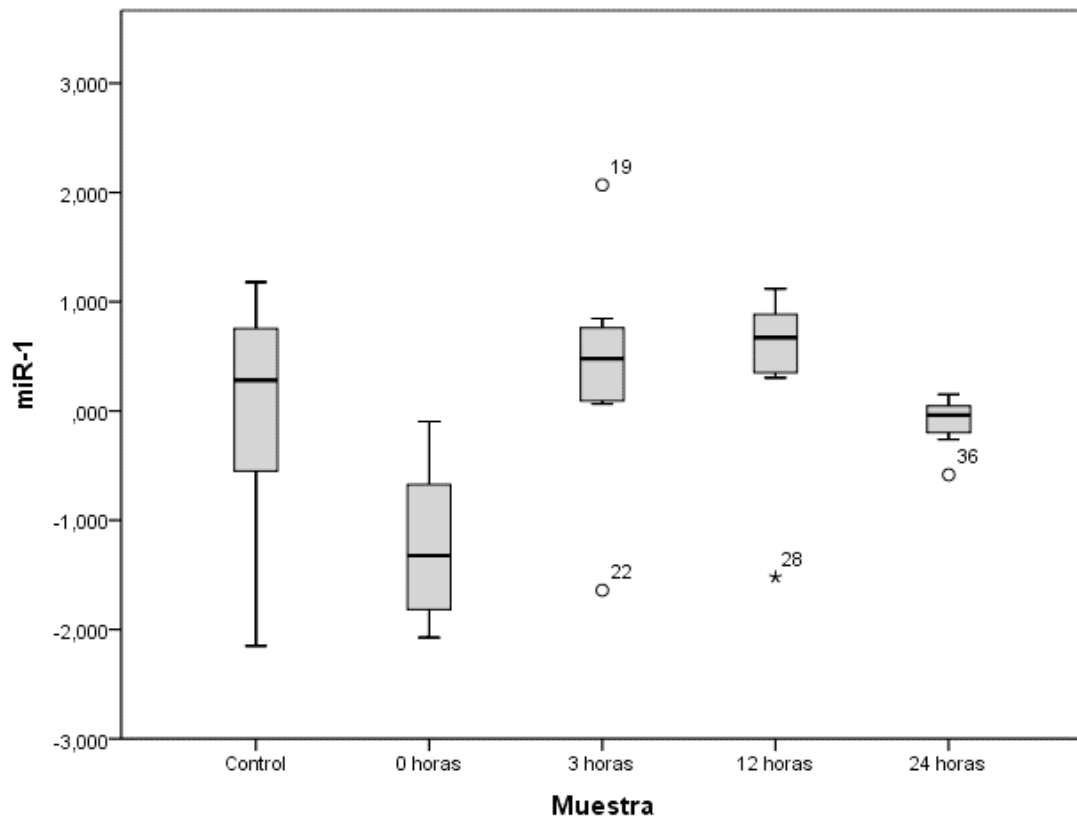
Finalmente se determinó si había una expresión diferencial en los pacientes que desarrollaron remodelado y los que no, ya sea mediante el mismo modelo lineal general, ya sea mediante la comparación de los valores de un determinado punto temporal mediante el test de la U de Mann-Whitney, así como su representación gráfica.

miR-1

Tabla 9: Estadísticos descriptivos de los niveles de miR-1

	Mediana	Rango intercuartílico
0 horas	-1,32	1,14
3 horas	0,31	0,78
12 horas	0,65	0,69
24 horas	-0,13	0,46
Controles	0,28	1,61

**Figura 13: Diagrama de dispersión para miR-1**



Valores de miR-1 en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Figura 14: Diagrama de cajas para miR-1

No hubo diferencias significativas entre los valores de los controles y los valores de los pacientes a las 3 horas ($p=0,529$) ni a las 12 horas ($p=0,294$).

Se realizó el test no paramétrico de comparación entre muestras de Friedman, obteniéndose una $p= 0,013$

Analizando los valores a las 12 horas en relación con la aparición de remodelado, las diferencias entre grupos aplicando el test no paramétrico de la U de Mann-Whitney se acercaron a la significación estadística ($p=0,083$). Sin embargo, representando los valores no se observa una tendencia a la diferencia entre los grupos en función del remodelado.

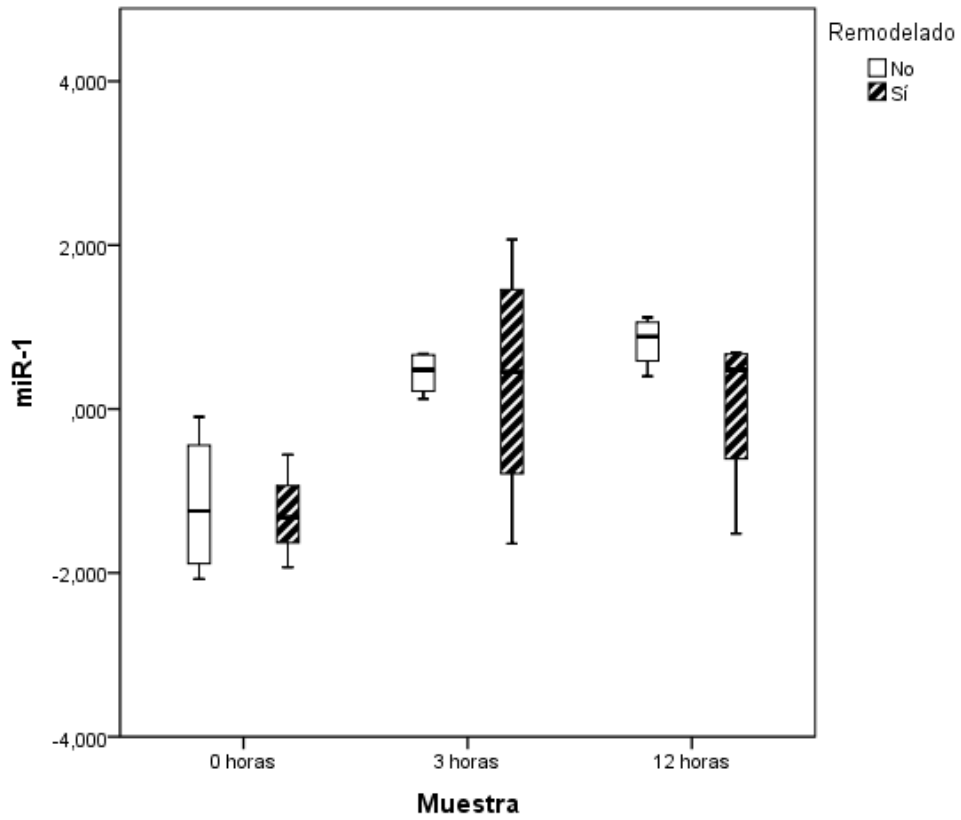


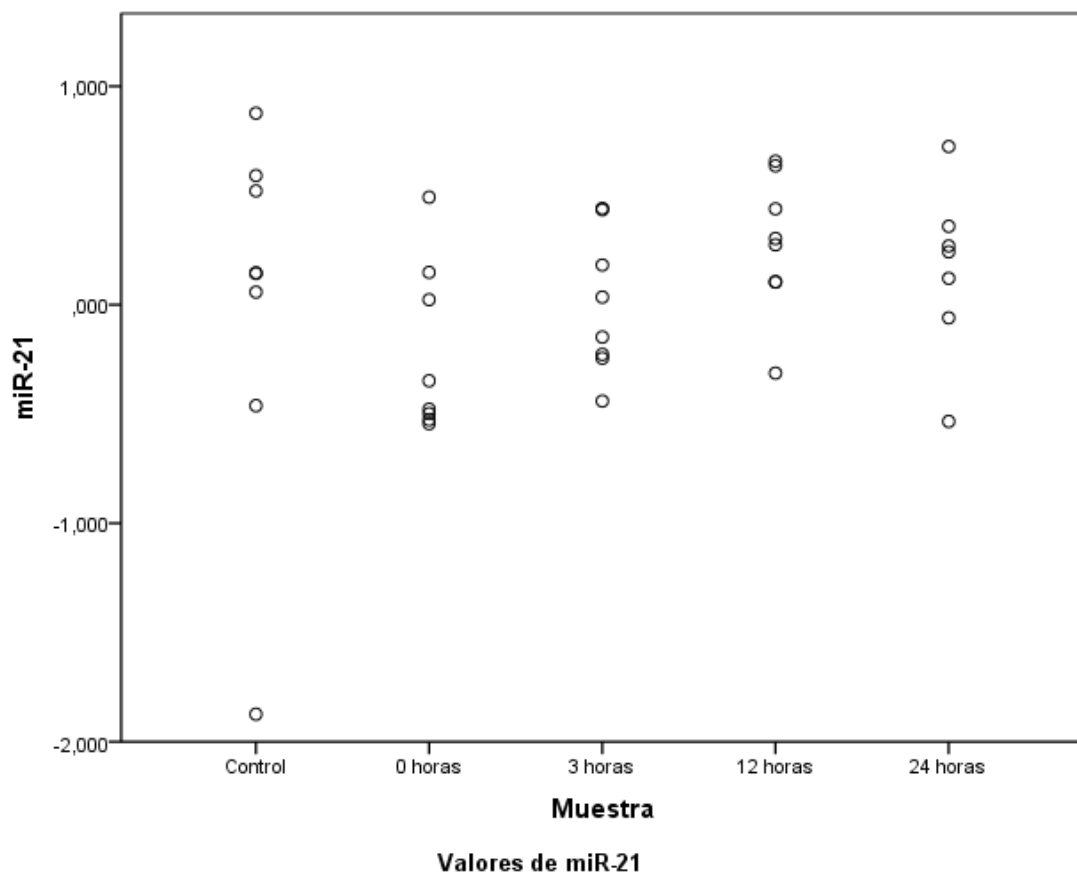
Diagrama de cajas para miR-1 según remodelado

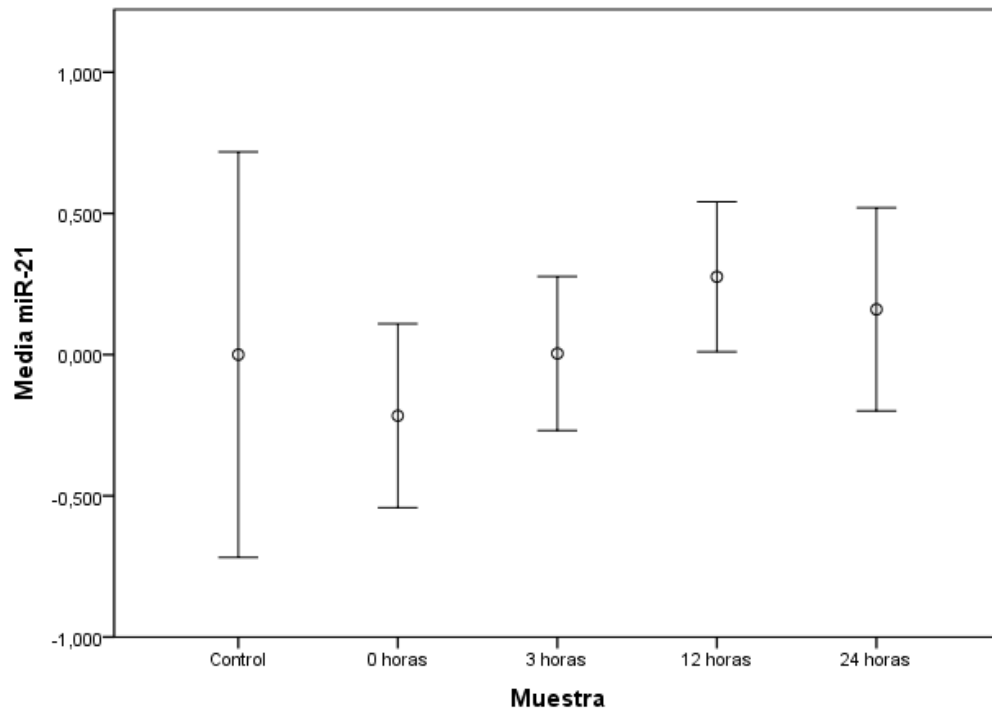
Figura 15: miR-1 en función del desarrollo de remodelado

miR-21

Tabla 10: Estadísticos descriptivos de los valores de miR-21

	Media	Desviación estándar
0 horas	-0,18	0,40
3 horas	0,04	0,34
12 horas	0,25	0,34
24 horas	0,16	0,39
Controles	0	1,09

**Figura 16: Diagrama de dispersión de los valores de miR-21**



Niveles de miR-21 en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Barras de error: Intervalo de confianza (95 %)

Figura 17: Gráfico de barras de error para miR-21

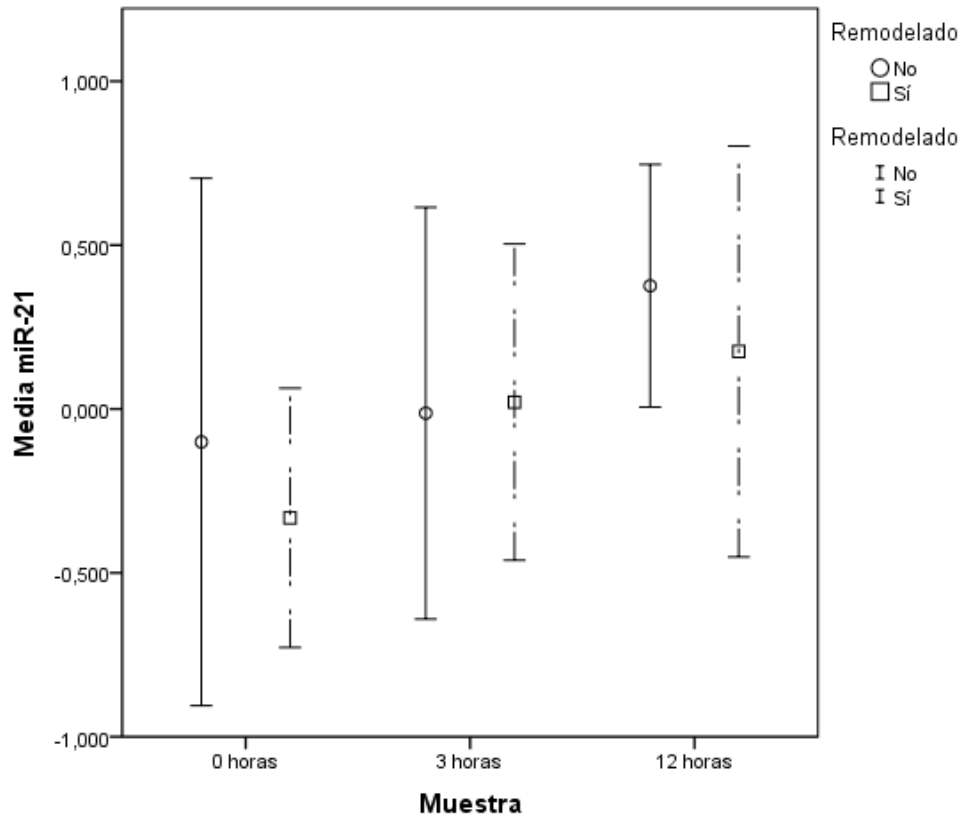
No se observaron diferencias significativas entre los controles y el valor a las 3 horas ($p=0,990$) ni a las 12 horas ($p=0,409$).

Se aplicó el modelo lineal general, con $p=0,03$, por lo que se hizo además la corrección entre pares de Bonferroni con diferencias significativas entre la muestras basal y la de las 12 horas.

Tabla 11: Modelo lineal general para miR-21

	Significación estadística (p)
Esfericidad Mauchly	0,921
Prueba de efectos intrasujetos (esfericidad asumida)	0,03
0-3 horas	0,747
0-12 horas	0,04
3-12 horas	0,406

Al analizar en el modelo lineal la influencia del remodelado, no se observaron diferencias significativas ($p: 0,437$).



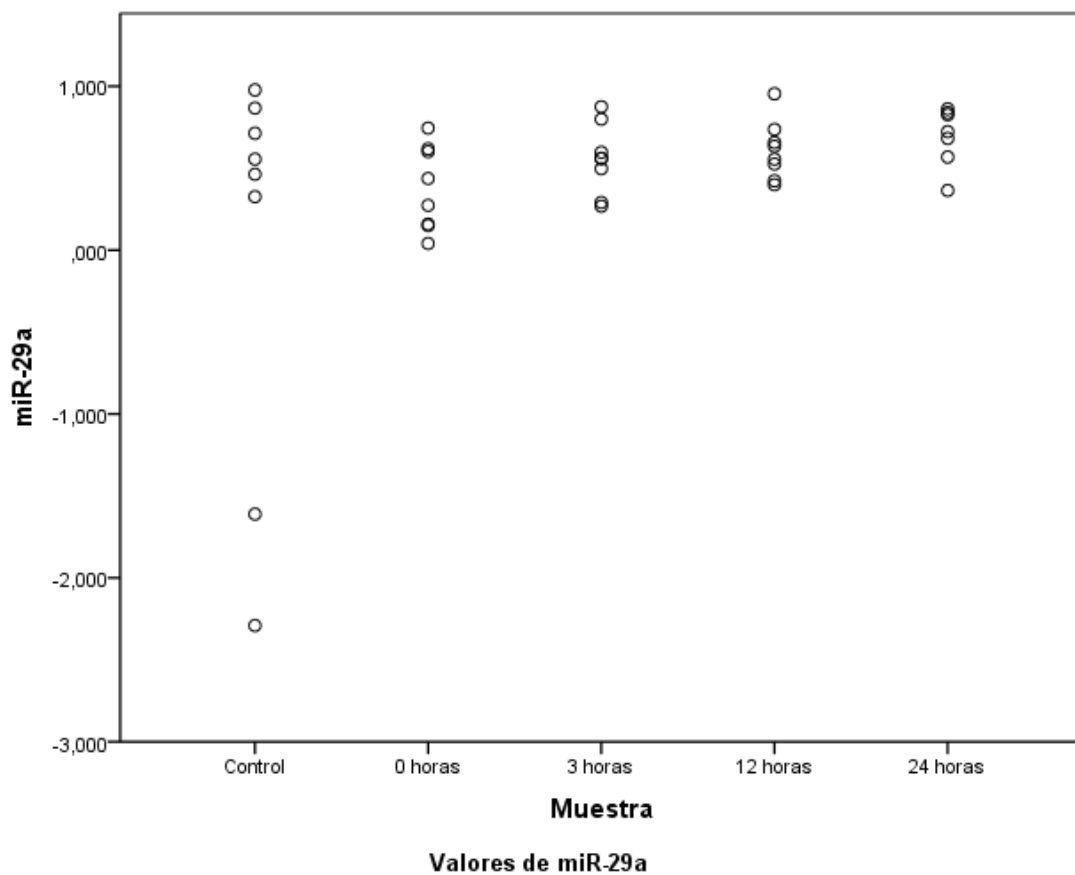
Barras de error de miR-21 en función del remodelado

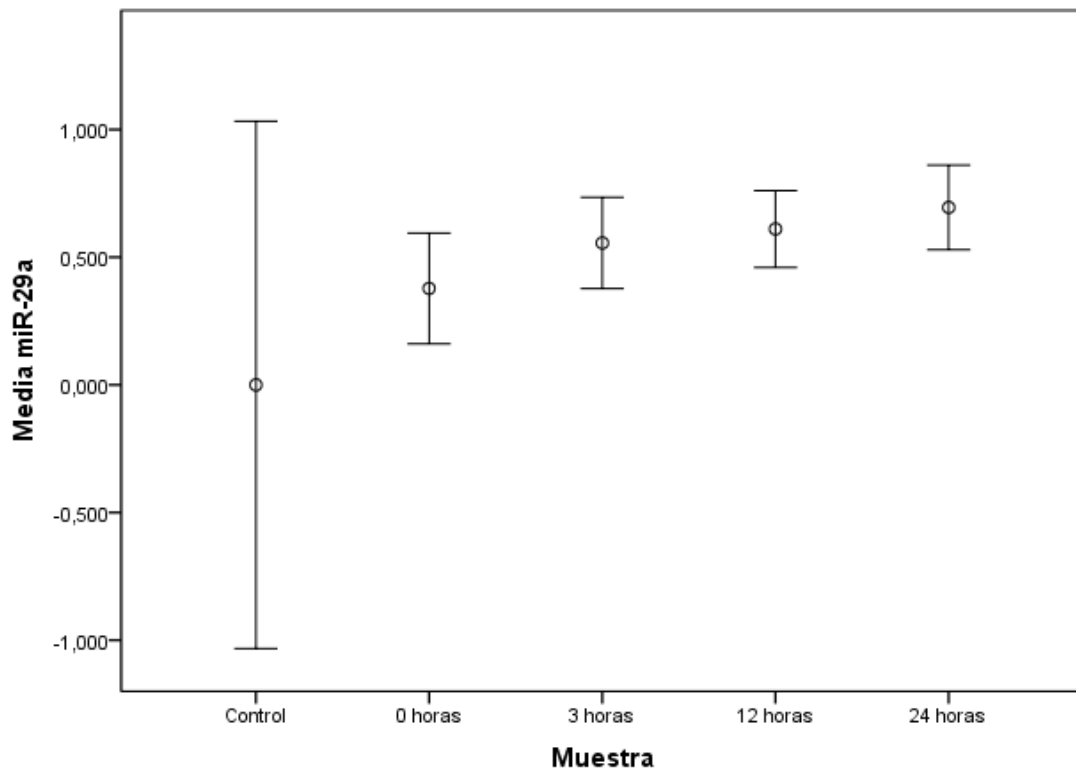
Figura 18: miR-21 en función del desarrollo de remodelado

miR-29a

Tabla 12: Estadísticos descriptivos para miR-29a

	Media	Desviación estándar
0 horas	0,35	0,26
3 horas	0,55	0,23
12 horas	0,60	0,19
24 horas	0,69	0,18
Controles	0	1,24

**Figura 19: Diagrama de dispersión para miR-29a**



Niveles de miR-29a en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Barras de error: Intervalo de confianza (95 %)

Figura 20: Gráfico de barras de error para miR-29a

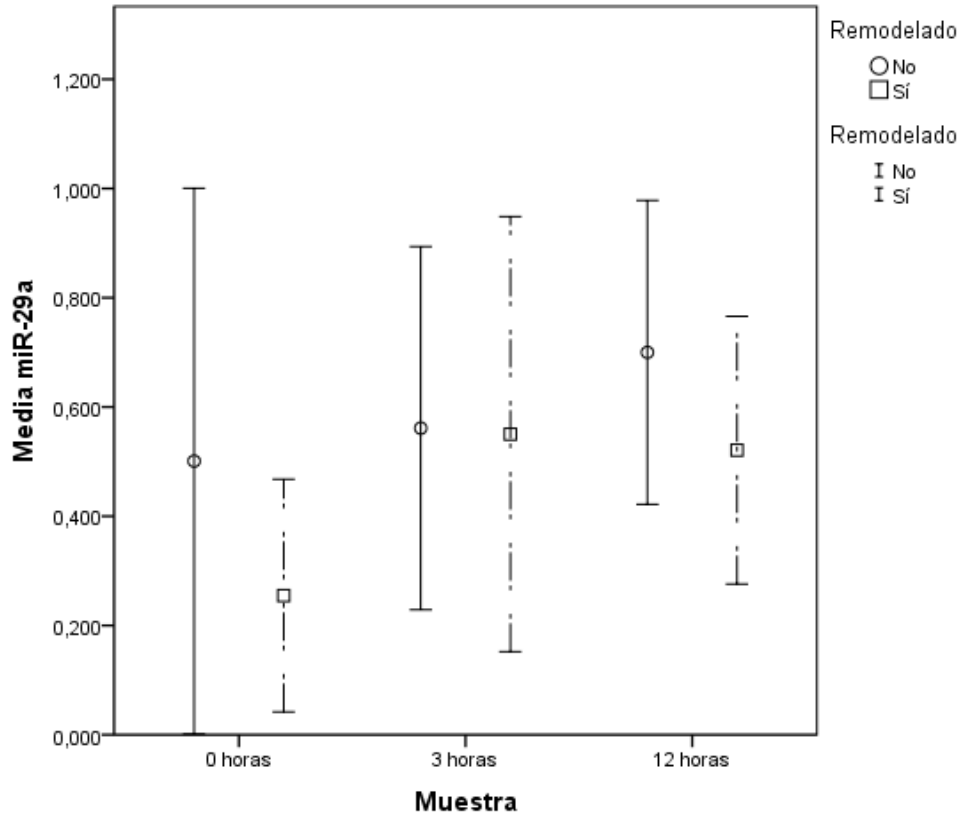
No se observaron diferencias significativas entre los controles y los valores a las 12 horas ($p=0,207$).

Aplicamos el modelo lineal general, con diferencias cercanas a la significación estadística sin alcanzarla ($p=0,085$)

Tabla 13: Modelo lineal general para mir-29a

	Significación estadística (p)
Esfericidad Mauchly	0,102
Prueba de efectos intrasujetos (esfericidad asumida)	0,085

Tampoco se observó influencia del remodelado en los valores de miR-29a ($p=0,179$).



Barras de error de miR-29a en función del remodelado

Figura 21: miR-29a en función del desarrollo de remodelado

miR-29b

Tabla 12: Estadísticos descriptivos para miR-29b

	Media	Desviación estándar
0 horas	-1,05	0,60
3 horas	-1,18	1,01
12 horas	-0,92	0,85
24 horas	-0,96	0,76
Controles	0	0,78

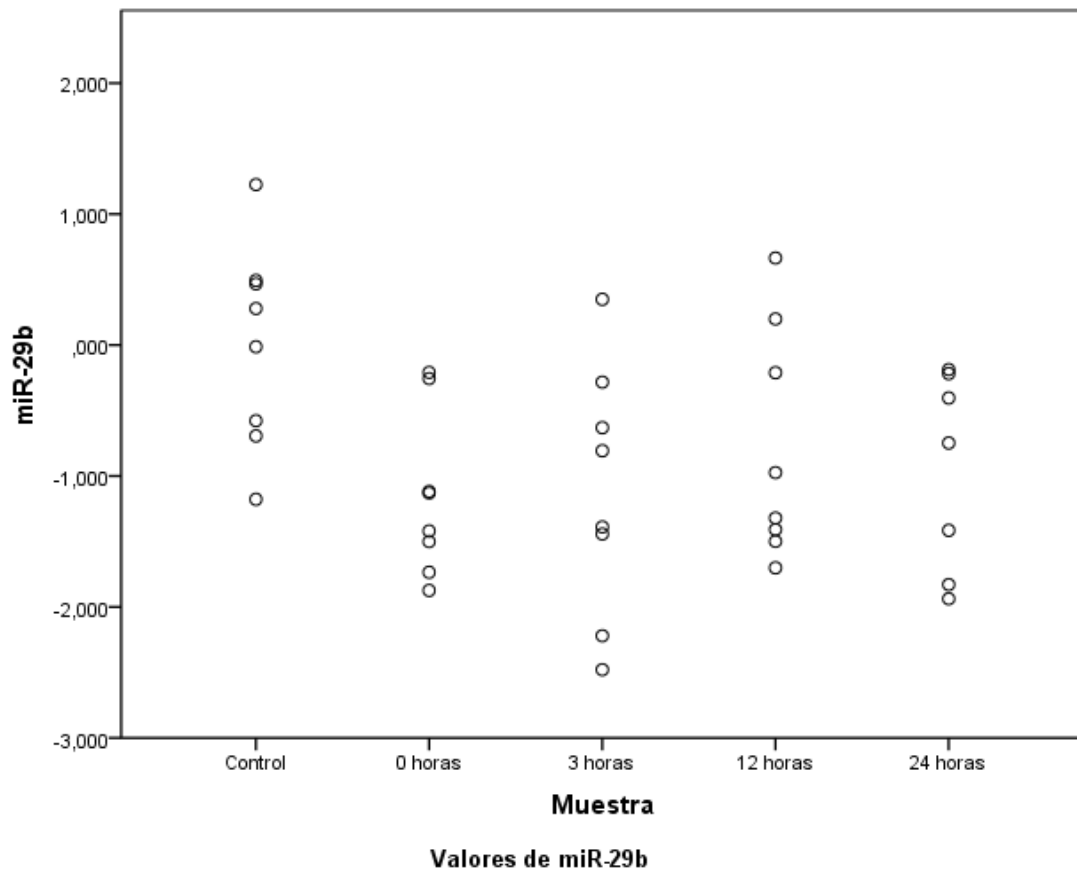
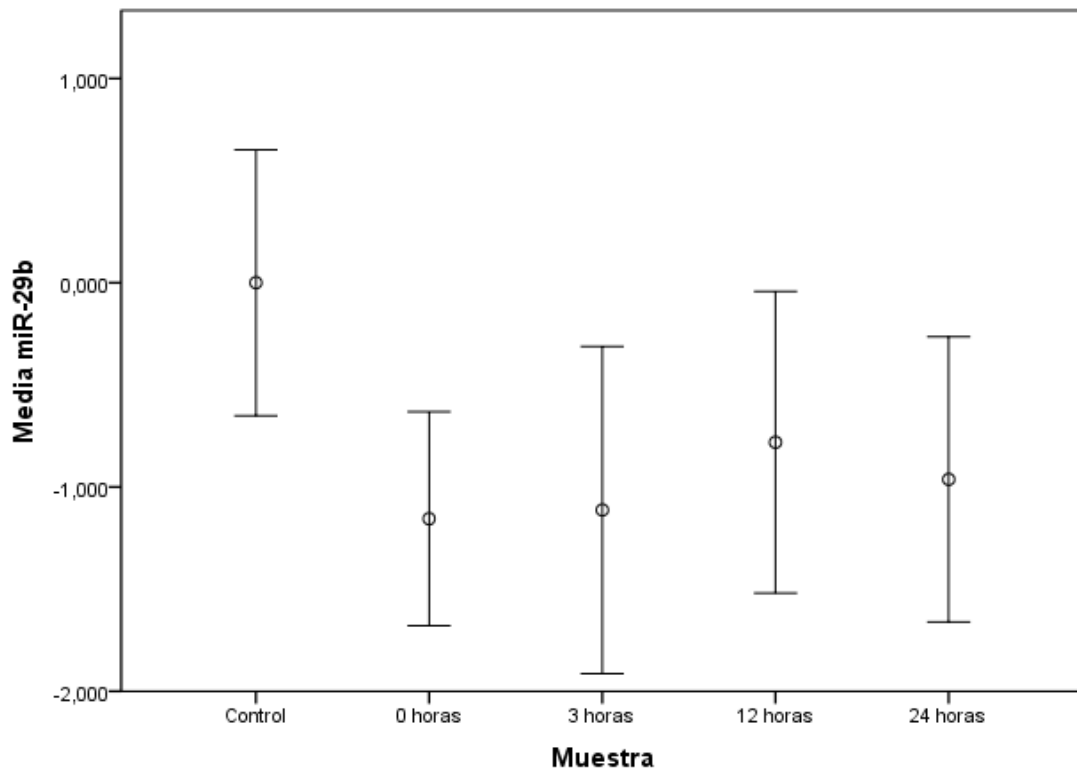


Figura 22: Diagrama de dispersión para miR-29b



Niveles de miR-29b en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Barras de error: Intervalo de confianza (95 %)

Figura 23: Gráfico de barras de error para miR-29b

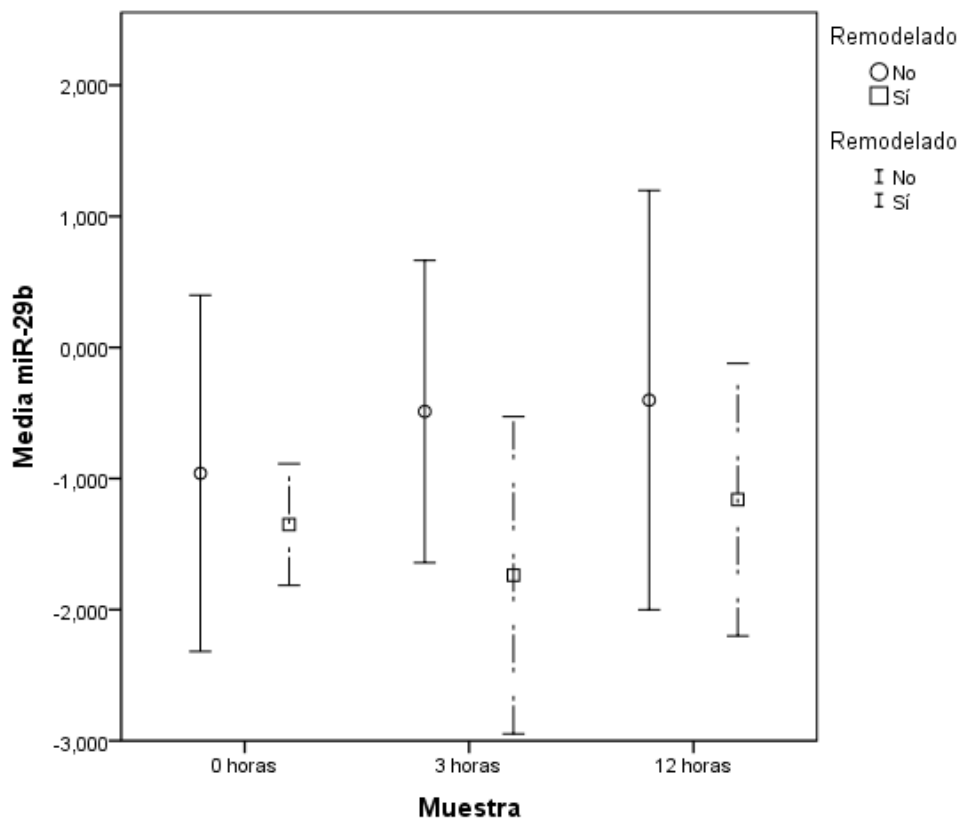
Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los controles y los valores a las 3 horas ($p=0,023$); no así entre controles y los valores a las 12 horas ($p=0,081$).

Sin embargo, no se observaron diferencias tras aplicar el modelo lineal general entre las muestras de los pacientes en función del tiempo.

Tabla 135: Modelo lineal general para mir-29b

	Significación estadística (p)
Esfericidad Mauchly	0,600
Prueba de efectos intrasujetos (esfericidad asumida)	0,471

Al analizar la influencia del remodelado, se observaron diferencias que no alcanzaron significación ($p=0,073$). Al representar los valores observamos una tendencia a que los valores de miR-29b aumentaran en los pacientes con remodelado adverso, que no se observó en los que no remodelaron.



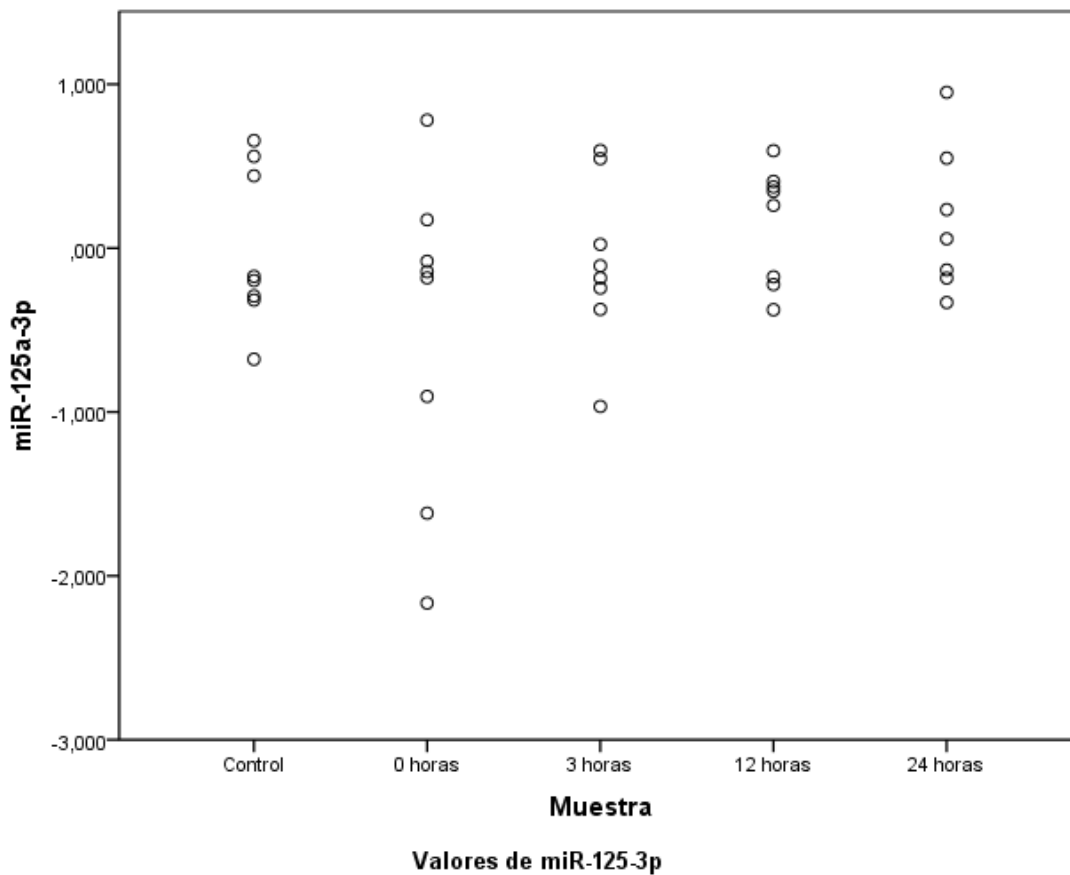
Barras de error de miR-29b en función del remodelado

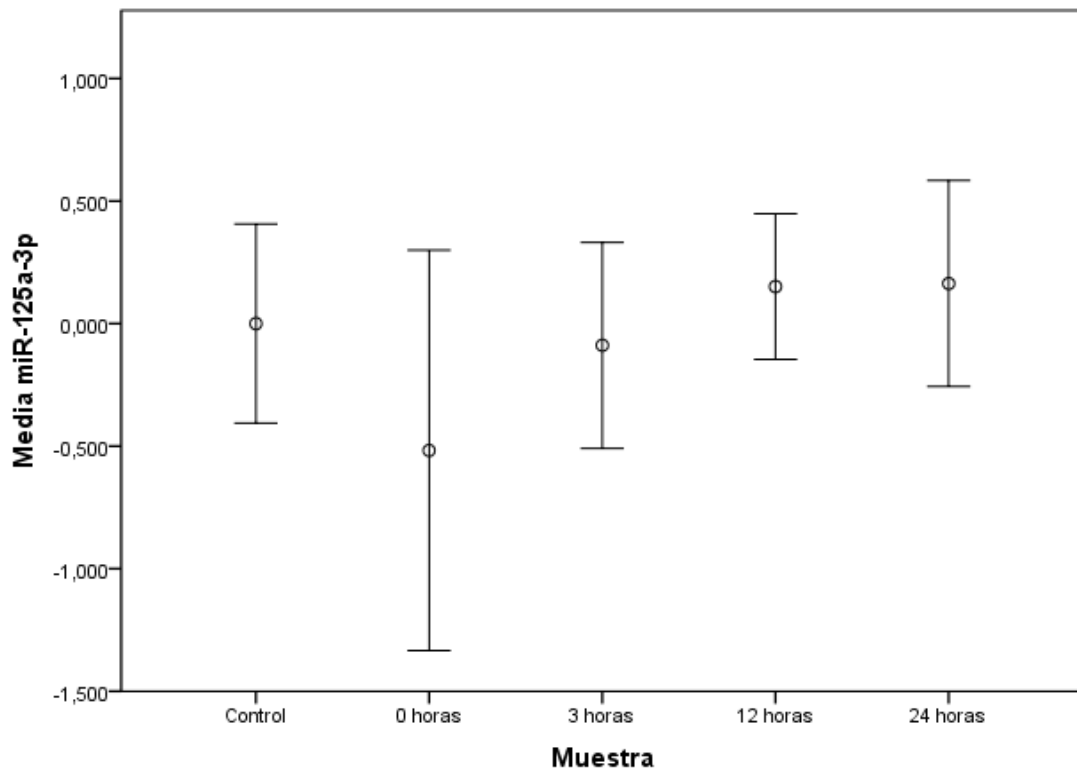
Figura 24: miR-29b en función del desarrollo de remodelado

miR-125a-3p

Tabla 14: Estadísticos descriptivos para miR-125a-3p

	Media	Desviación estándar
0 horas	-0,46	1,04
3 horas	-0,07	0,54
12 horas	0,12	0,37
24 horas	0,16	0,45
Controles	0	0,49

**Figura 25: Diagrama de dispersión para miR-125a-3p**



Niveles de miR-125a-3p en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Barras de error: Intervalo de confianza (95 %)

Figura 26: Gráfico de barras de error para miR-125a-3p

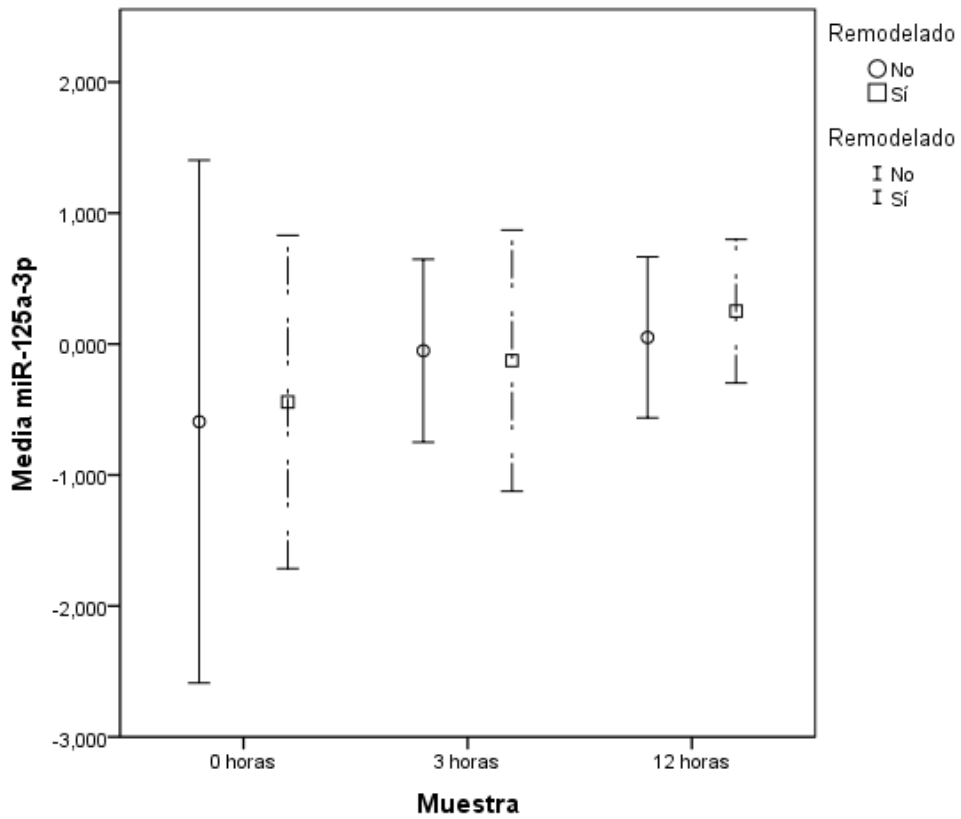
No hubo diferencias entre los controles y los valores a las 3 horas ($p=0,725$) ni a las 12 horas ($p=0,489$).

Si bien se mostró una ligera tendencia al ascenso, aplicando el modelo lineal general no se encontraron diferencias significativas.

Tabla 17: Modelo lineal general para mir-125a-3p

	Significación estadística (p)
Esfericidad Mauchly	0,372
Prueba de efectos intrasujetos (esfericidad asumida)	0,142

No se observaron diferencias en relación con la aparición de remodelado ($p=0,781$).



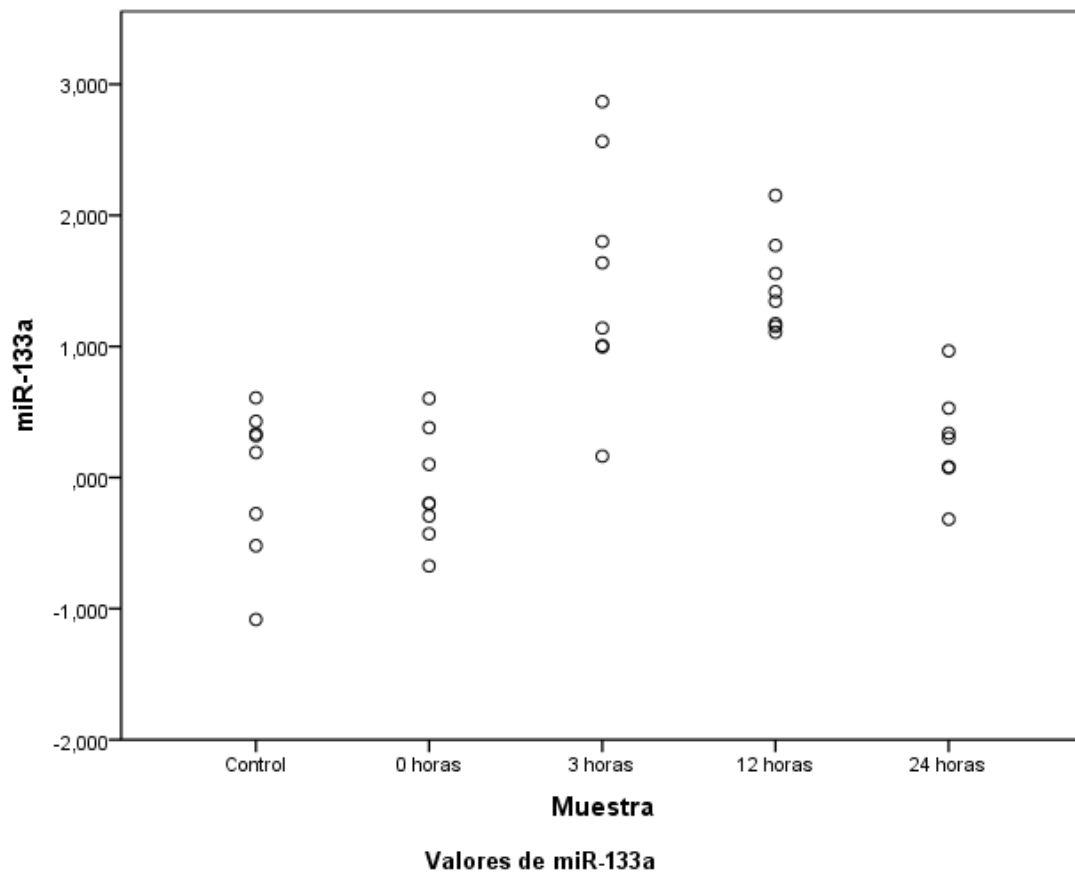
Barras de error de miR-125a-3p en función del remodelado

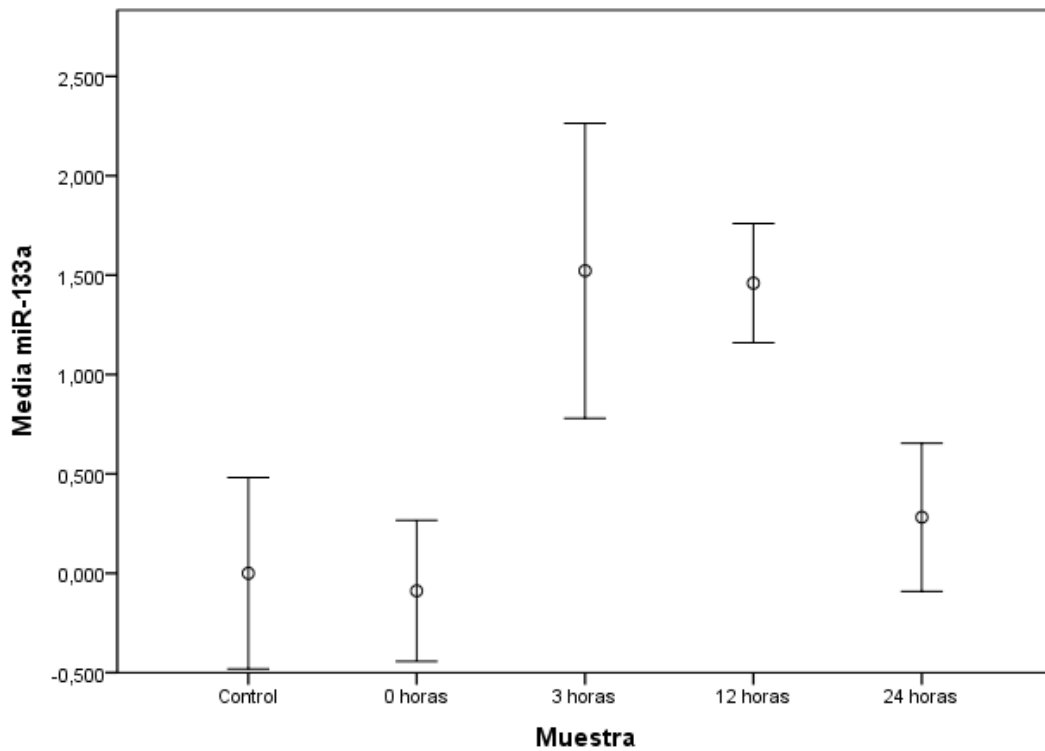
Figura 27: miR-125a-3p en función del desarrollo de remodelado

miR-133a

Tabla 15: Estadísticos descriptivos para miR-133a

	Media	Desviación estándar
0 horas	-0,04	0,43
3 horas	1,50	0,96
12 horas	1,48	0,38
24 horas	0,28	0,40
Controles	0	0,58

**Figura 28: Diagrama de dispersión para miR-133a**



Niveles de miR-133a en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Barras de error: Intervalo de confianza (95 %)

Figura 29: Gráfico de barras de error para miR-133a

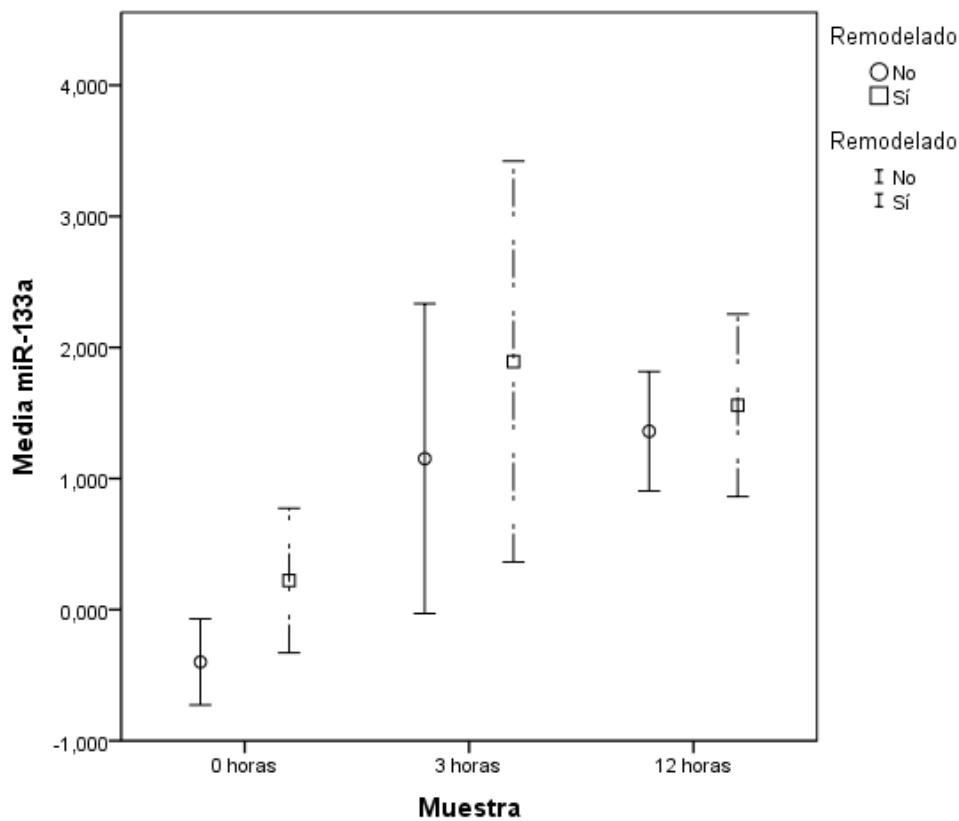
Hubo diferencias significativas entre los controles y los valores de los pacientes a las 3 horas ($p=0,001$) y 12 horas ($p=0,000$).

También, aplicando el modelo lineal general se encontró una fuerte significación estadística en las curvas ($p=0,001$), siendo también significativas las diferencias entre la muestra basal y las 3 y 12 horas.

Tabla 16: Modelo lineal general para miR-133a

	Significación estadística (p)
Esfericidad Mauchly	0,048
Prueba de efectos intrasujetos (límite inferior)	0,001
0-3 horas	0,006
0-12 horas	0,000
3-12 horas	1

Al analizar los niveles de miR-133a en función de la aparición de remodelado, los valores se acercaron a la significación estadística ($p=0,094$). Al representar los resultados se observó que en ambos grupos aumentaban los niveles de miR-133a, pero que este aumento era mayor en el grupo de los pacientes que presentaban remodelado.



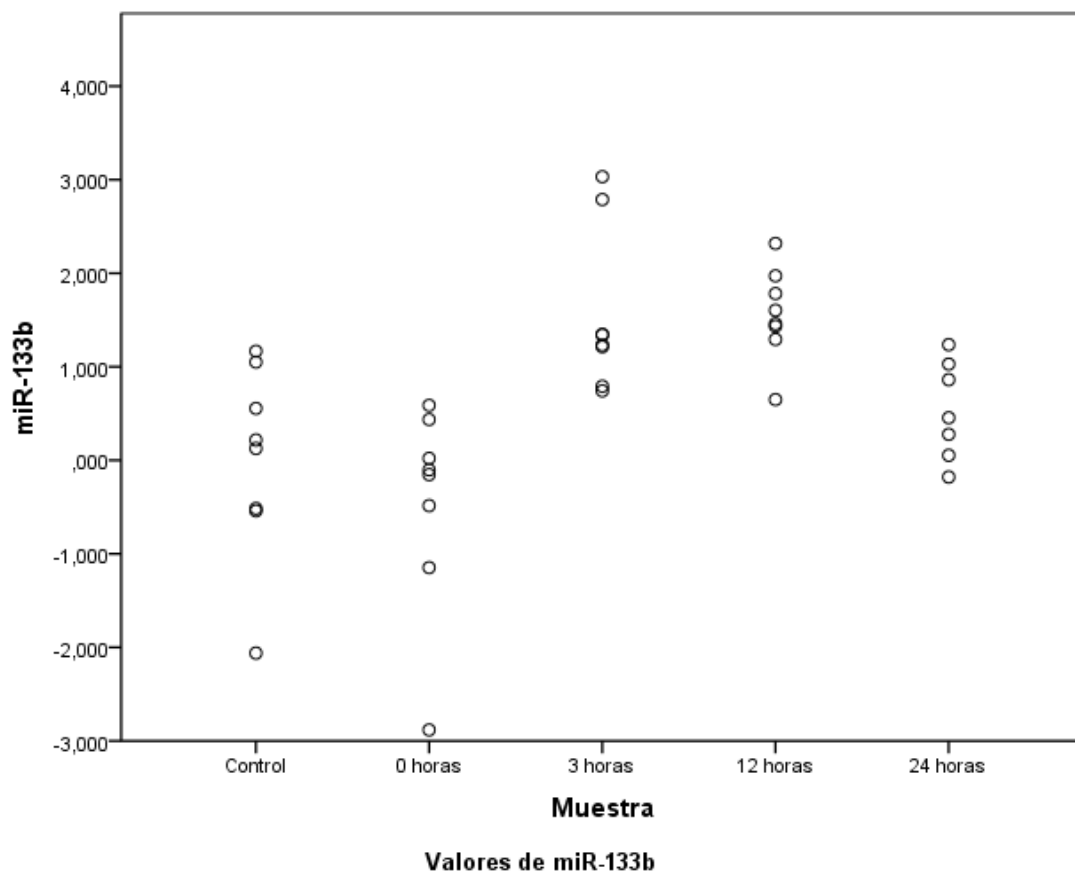
Barras de error de miR-133a en función del remodelado

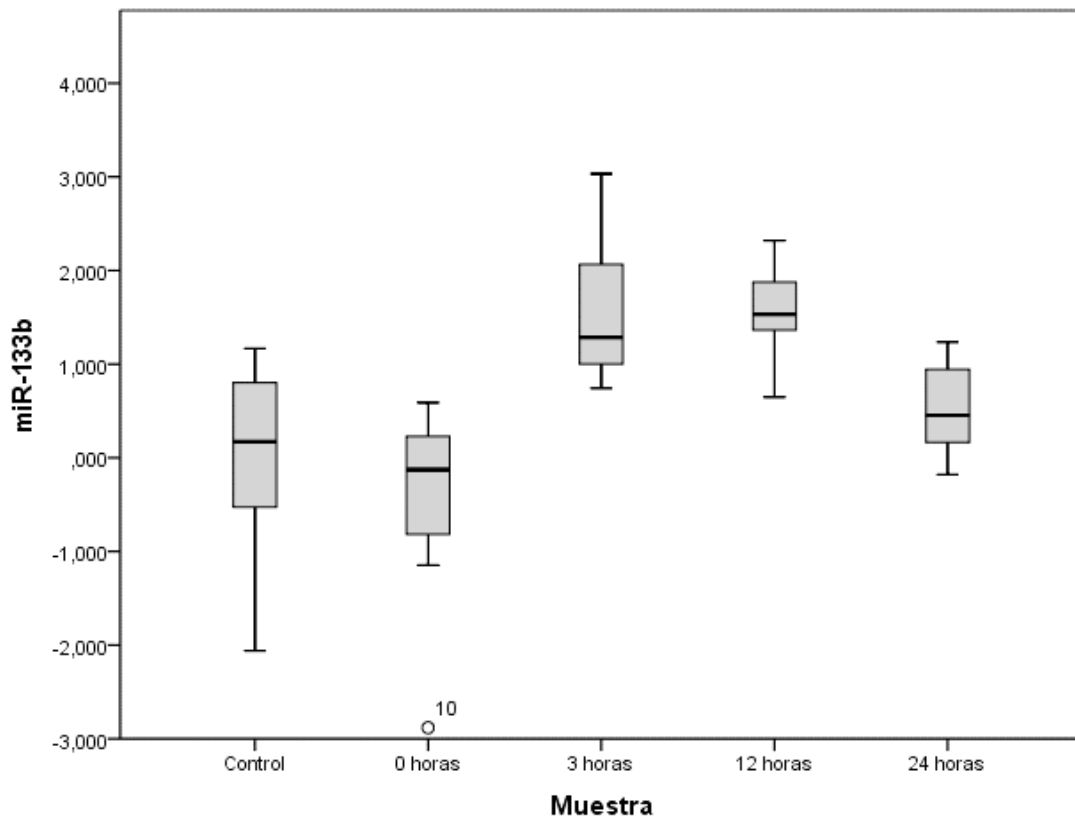
Figura 30: miR-133a en función del desarrollo de remodelado

miR-133b

Tabla 20: Estadísticos descriptivos para miR-133b

	Mediana	Rango intercuartílico
0 horas	-0,10	0,92
3 horas	1,23	2,00
12 horas	1,60	0,68
24 horas	0,46	0,97
Controles	0,17	1,46

**Figura 31: Diagrama de dispersión para miR-133b**



Valores de miR-133b en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Figura 32: Diagrama de cajas para miR-133b

Hubo diferencias significativas entre los controles y los valores a las 3 horas ($p=0,003$) y a las 12 horas ($p=0,002$).

Se utilizó para valorar las diferencias en función del tiempo el test de comparación entre muestras de Friedman, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p= 0,002$).

Analizando los valores pico con respecto a la variable remodelado, no se observaron diferencias significativas a las 3 horas ($p=0,343$) ni a las 12 horas ($p=0,686$).

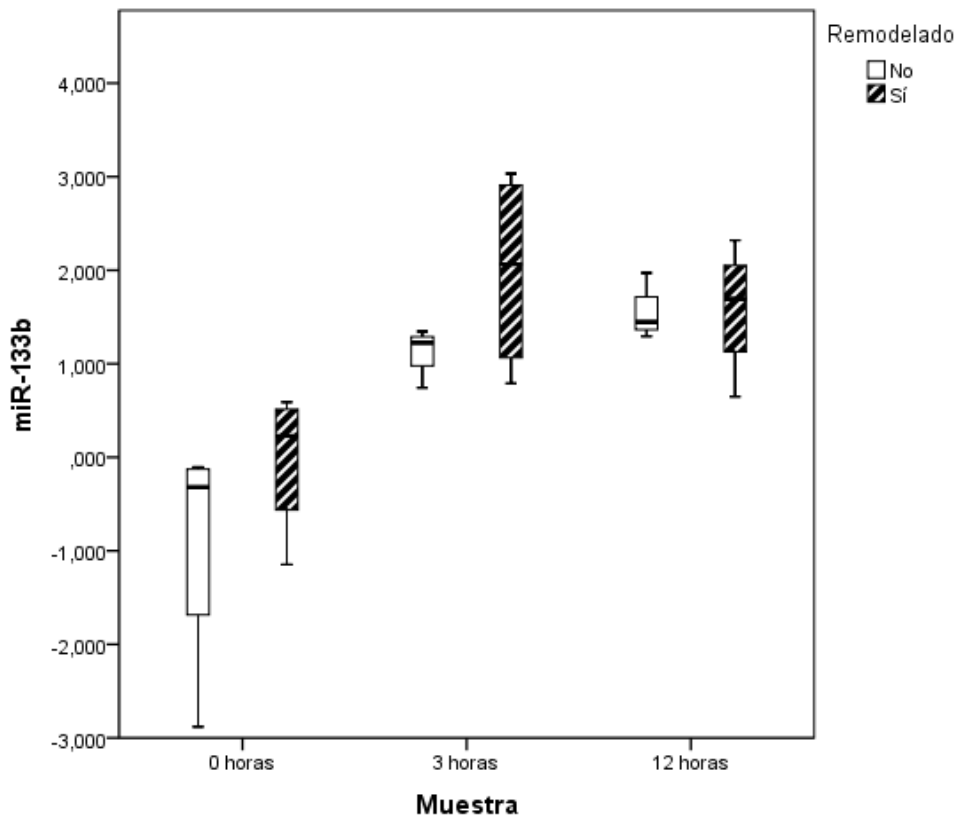


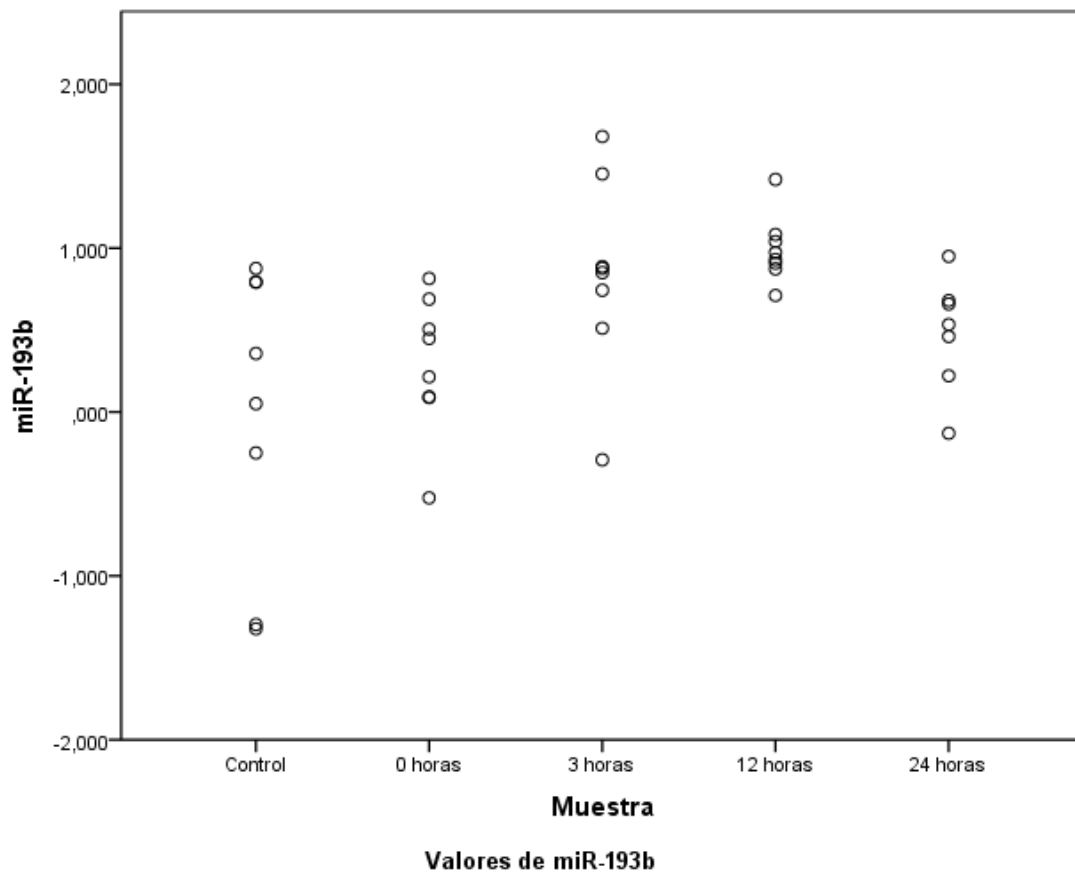
Diagrama de cajas para miR-133b según remodelado

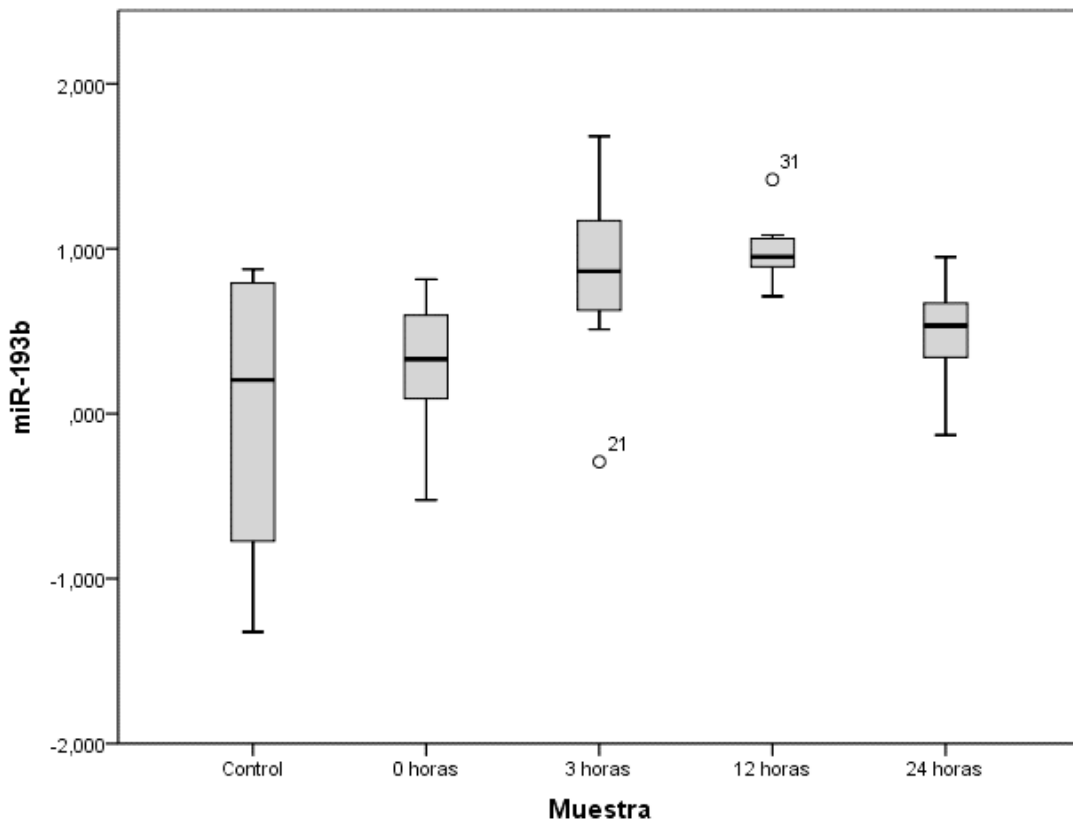
Figura 33: miR-133b en función del desarrollo de remodelado

miR-193

Tabla 21: Estadísticos descriptivos para miR-193

	Mediana	Rango intercuartílico
0 horas	0,21	0,41
3 horas	0,85	0,94
12 horas	0,97	0,17
24 horas	0,53	0,46
Controles	0,20	1,83

**Figura 34: Diagrama de dispersión para miR-193**



Valores de miR-193b en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Figura 35: Diagrama de cajas para miR-193

Hubo diferencias significativas entre los valores de los controles y los de los pacientes a las 3 horas ($p=0,046$) y a las 12 horas ($p=0,003$)

Se realizó el test de comparación entre muestras de Friedman, determinando que las diferencias eran estadísticamente muy significativas: $p = 0,006$

No hubo diferencias entre los valores pico en función de la presencia posterior de remodelado ni a las 3 horas ($p=0,486$) ni a las 12 horas ($p=0,773$)

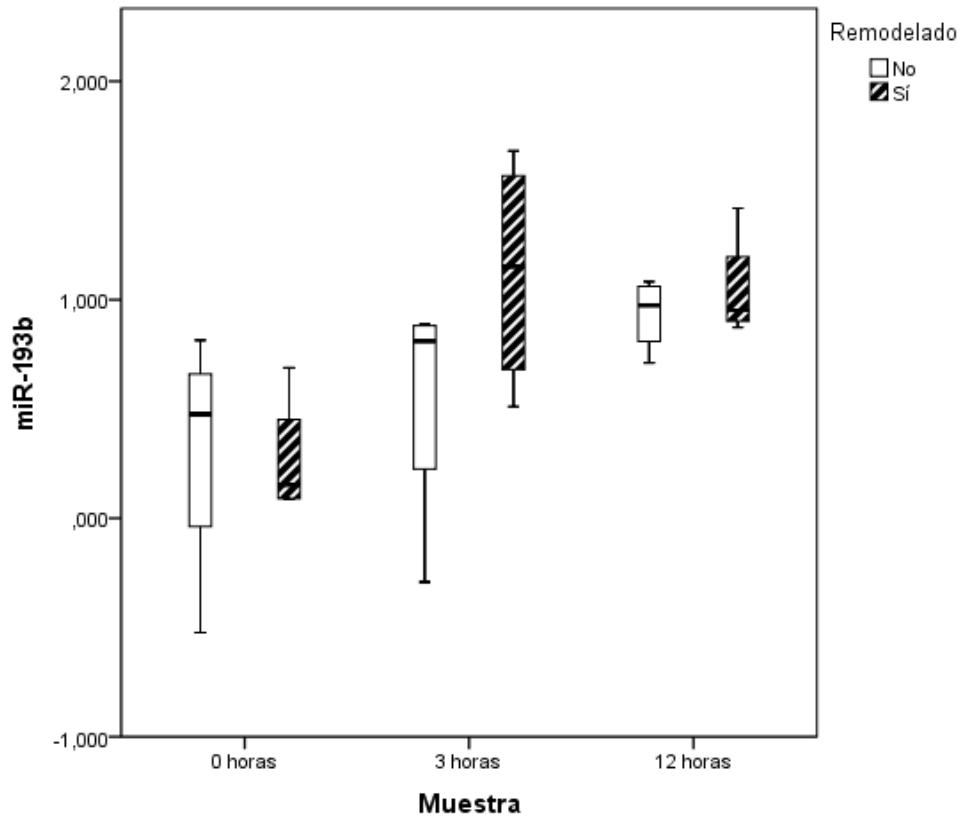


Diagrama de cajas para miR-193b según remodelado

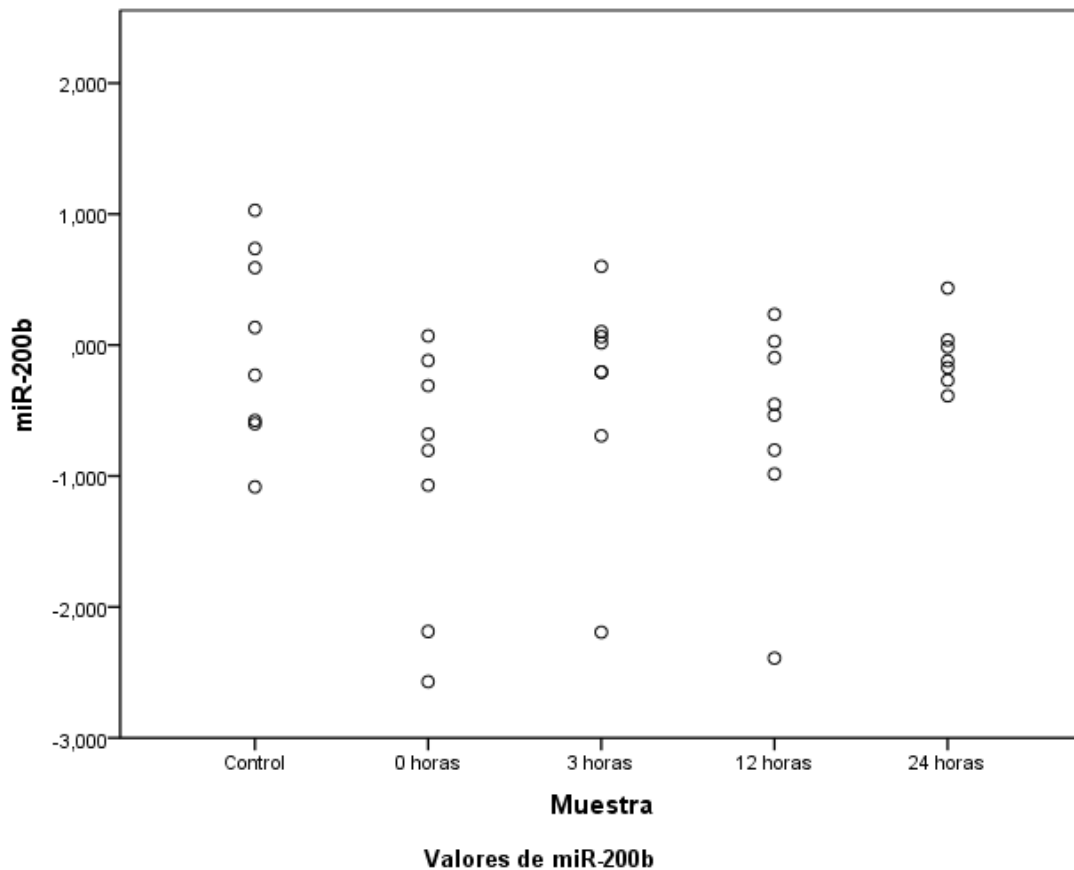
*

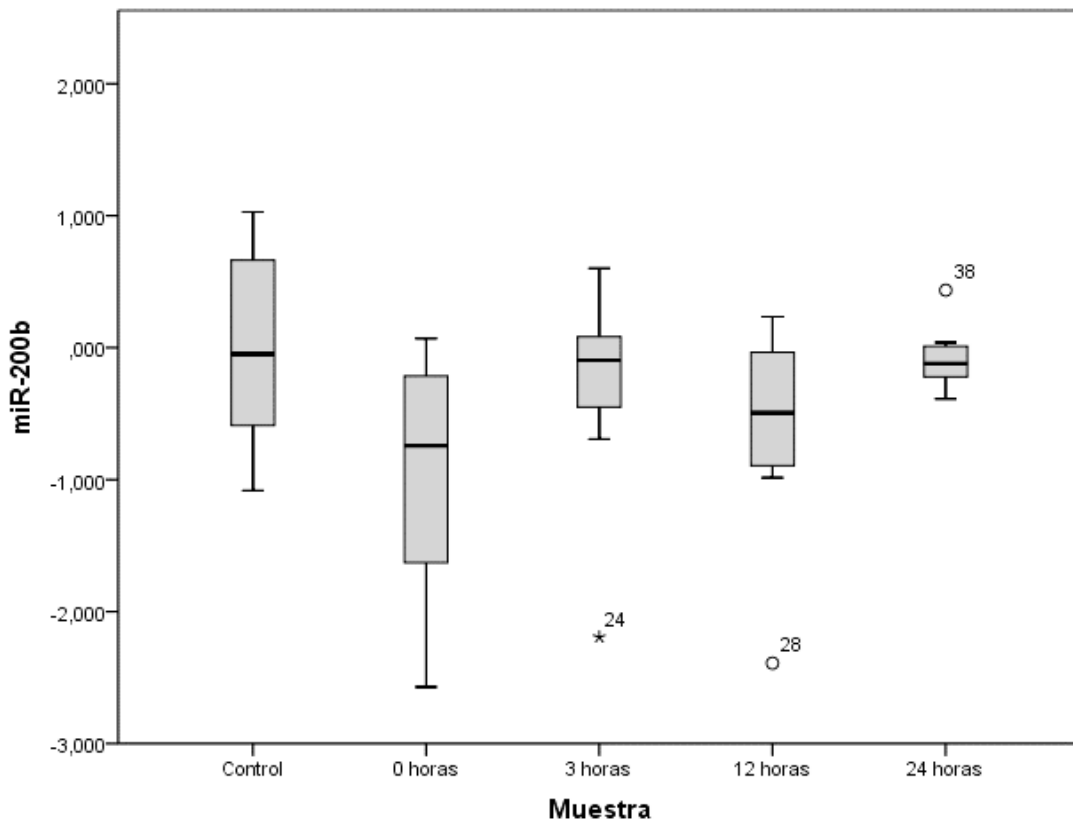
Figura 36: miR-193b en función del desarrollo de remodelado

miR-200b

Tabla 22: Estadísticos descriptivos para miR-200b

	Mediana	Rango intercuartílico
0 horas	-0,81	1,88
3 horas	0,02	0,31
12 horas	-0,53	1,01
24 horas	-0,12	0,31
Controles	-0,05	1,30

**Figura 37: Diagrama de dispersión para miR-200b**



Valores de miR-200b en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Figura 38: Diagrama de cajas para miR-208

No se observaron diferencias entre los controles y los valores a las 3 horas ($p=0,600$) ni a las 12 horas ($p=0,248$).

Se realizó el test de comparación entre muestras de Friedman, rozando la significación estadística ($p= 0,050$).

Tampoco se encontraron diferencias de los valores pico con respecto al remodelado a las 3 horas ($p=0,486$) ni a las 12 horas ($p=0,886$).

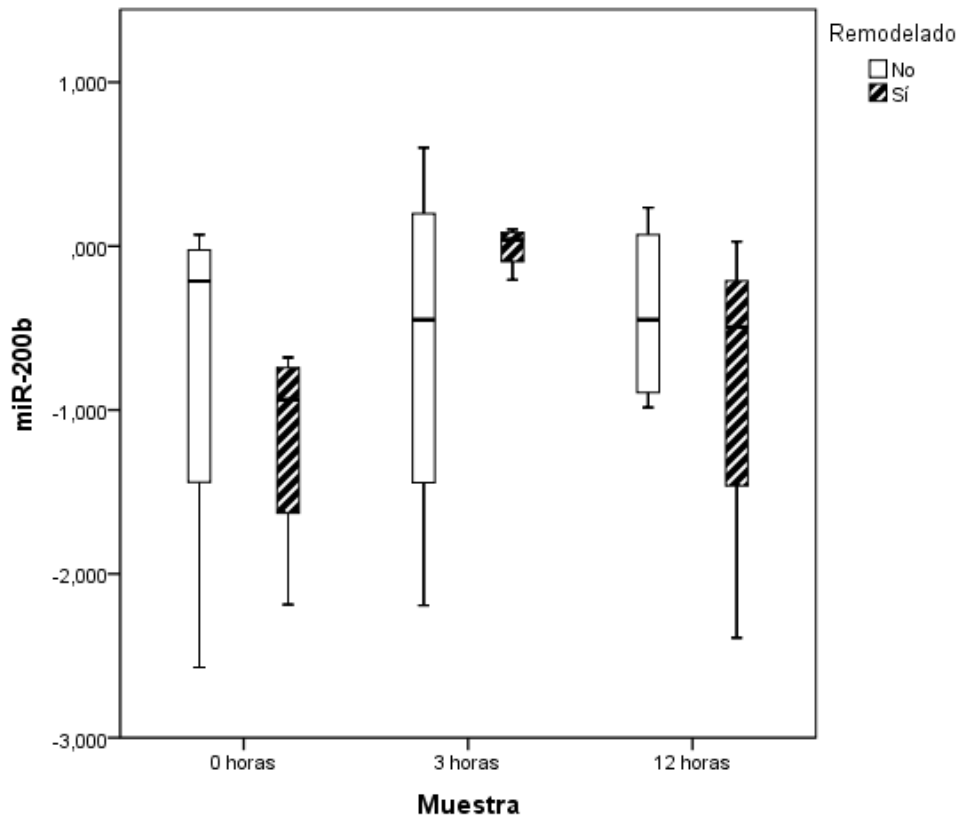


Diagrama de cajas para miR-200b según remodelado

Figura 39: miR-200b en función del desarrollo de remodelado

miR-208

Tabla 23: Estadísticos descriptivos para miR-208

	Media	Desviación estándar
0 horas	-1,20	0,45
3 horas	-0,76	1,16
12 horas	-0,78	0,96
24 horas	-1,19	0,82
Controles	0	1,06

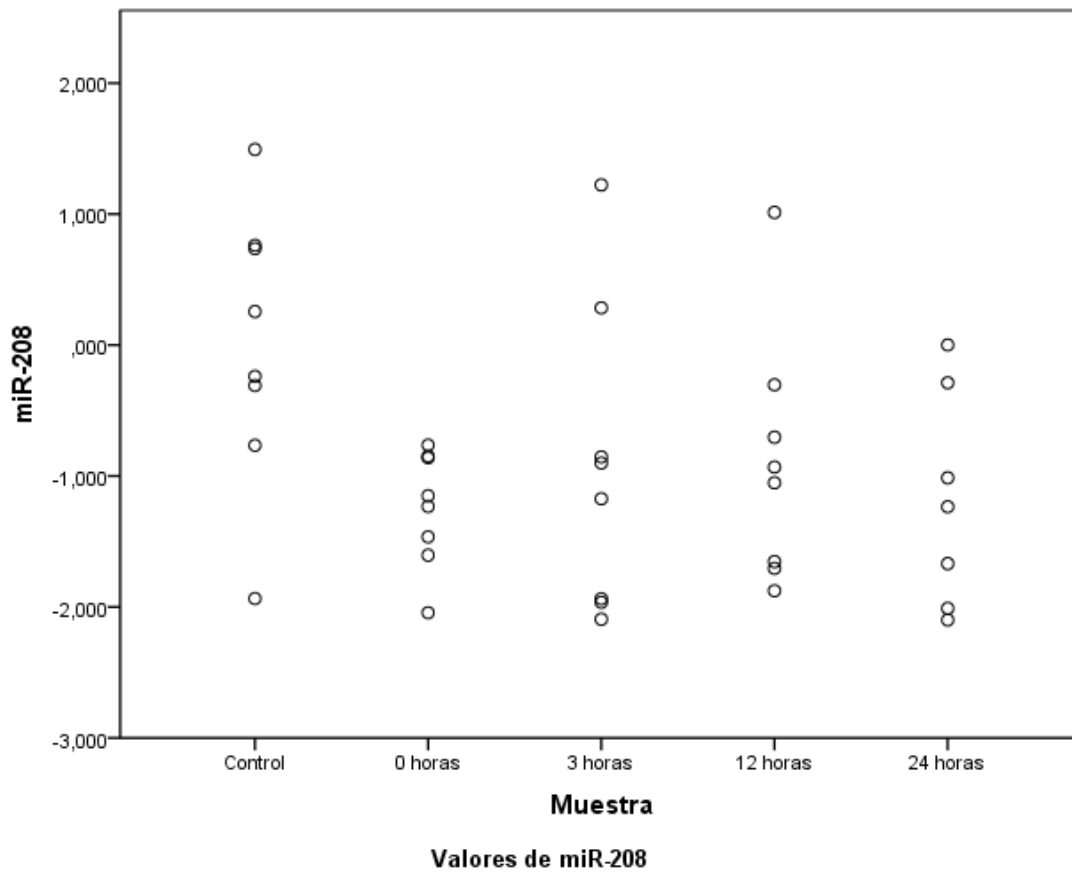
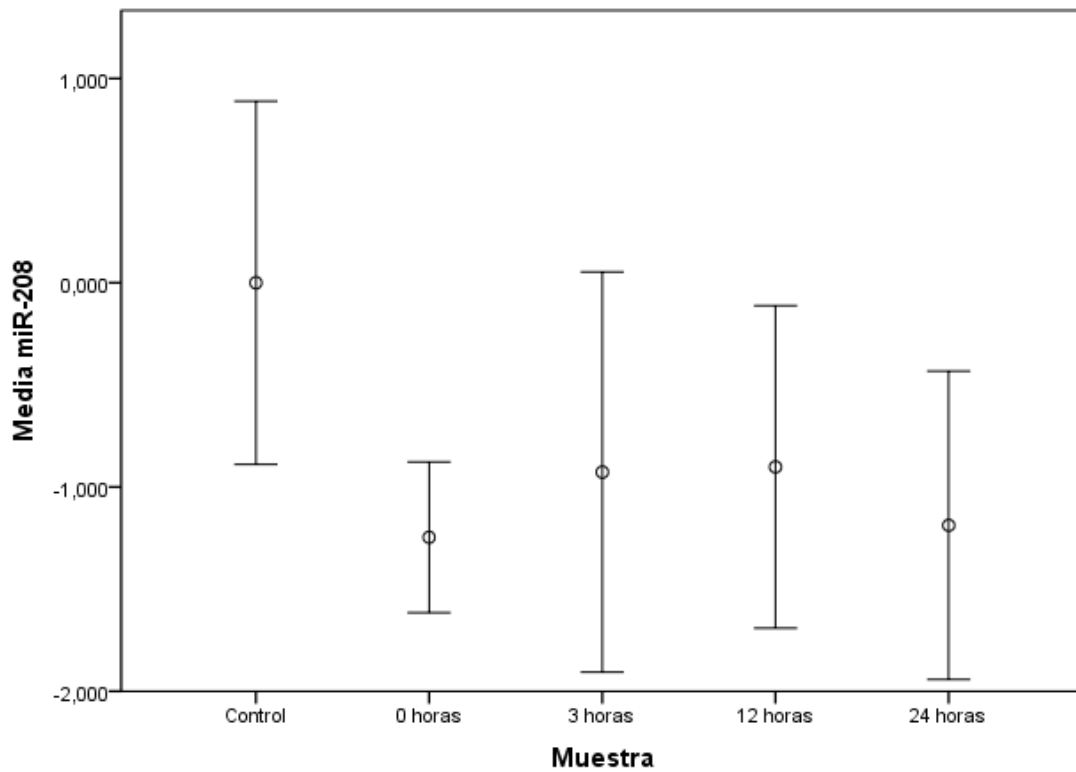


Figura 40: Diagrama de dispersión para miR-208



Niveles de miR-208 en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Barras de error: Intervalo de confianza (95 %)

Figura 41: Gráfico de barras de error para miR-208

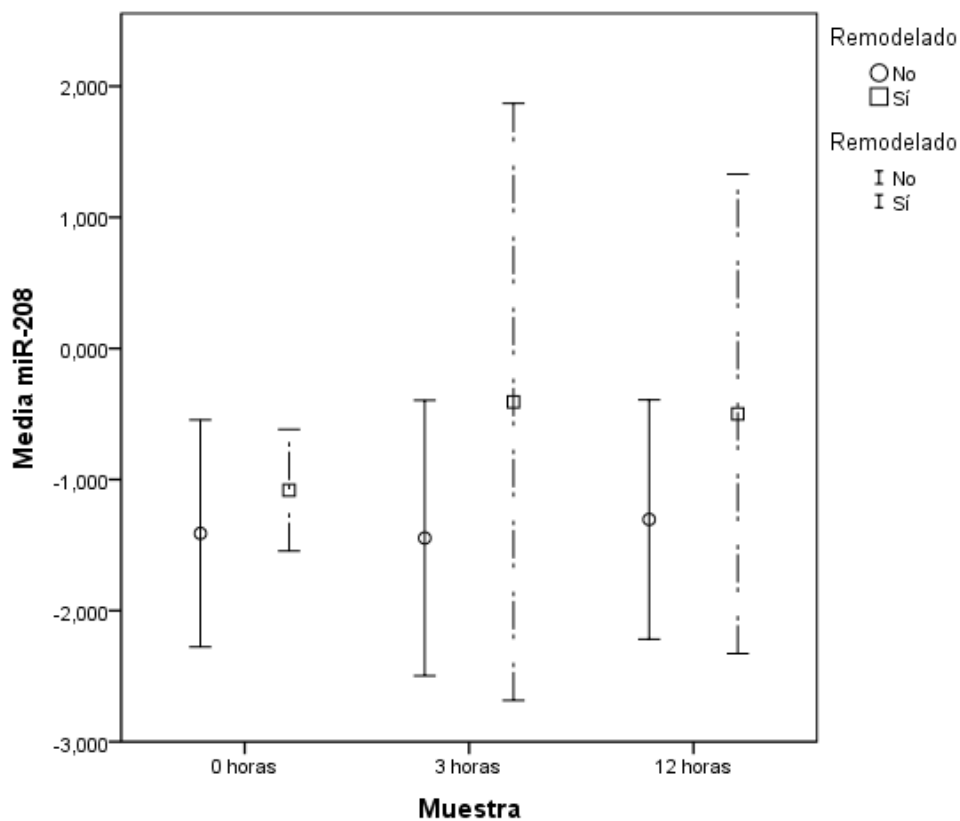
No se observaron diferencias significativas entre los controles y los valores de los pacientes a las 3 horas ($p=0,120$) ni a las 12 horas ($p=0,095$).

Tampoco observamos diferencias entre los diferentes puntos de los pacientes en función del tiempo aplicando el modelo lineal general.

Tabla 24: Modelo lineal general para miR-208

	Significación estadística (p)
Esfericidad Mauchly	0,669
Prueba de efectos intrasujetos (esfericidad asumida)	0,667

Al analizar los valores en función del remodelado, las diferencias rozaron la significación estadística ($p=0,077$). Al representar los resultados se observó que en los pacientes que desarrollaron remodelado ventricular aumentaron los niveles, si bien con una gran dispersión, mientras que en los que no lo hicieron se mantuvieron estables.



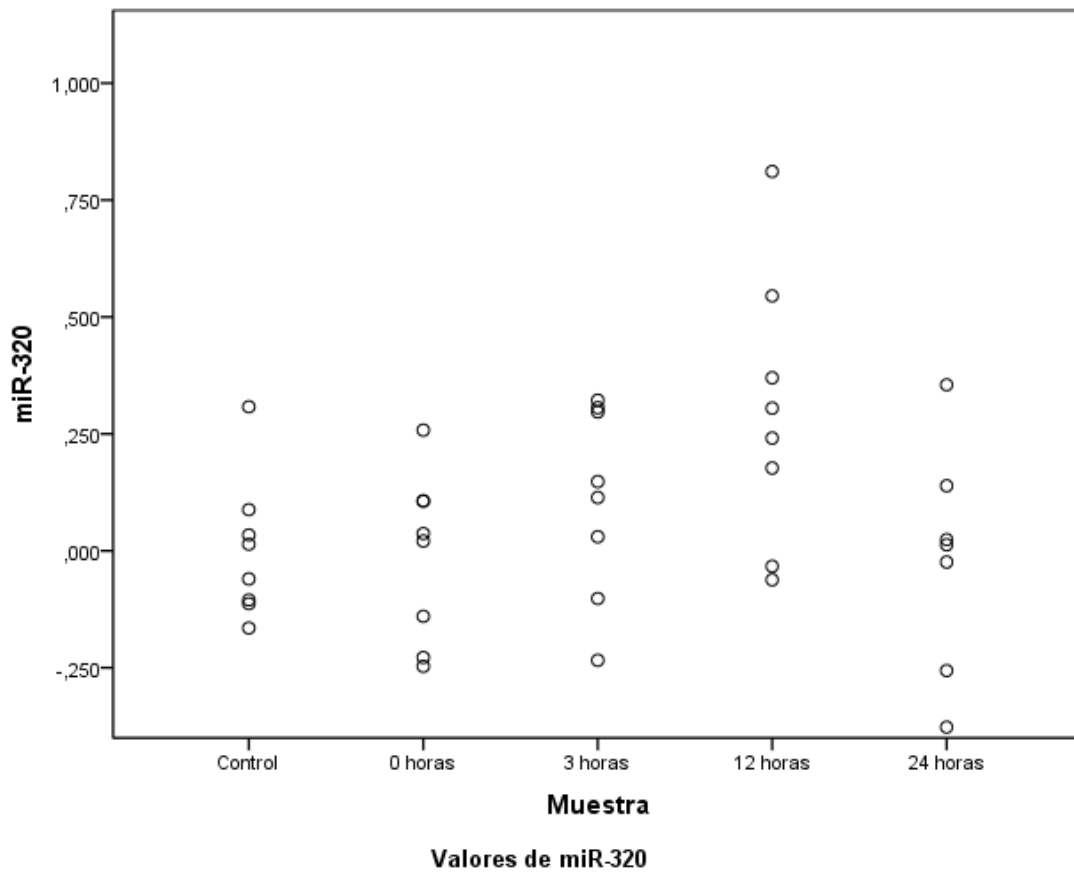
Barras de error de miR-208 en función del remodelado

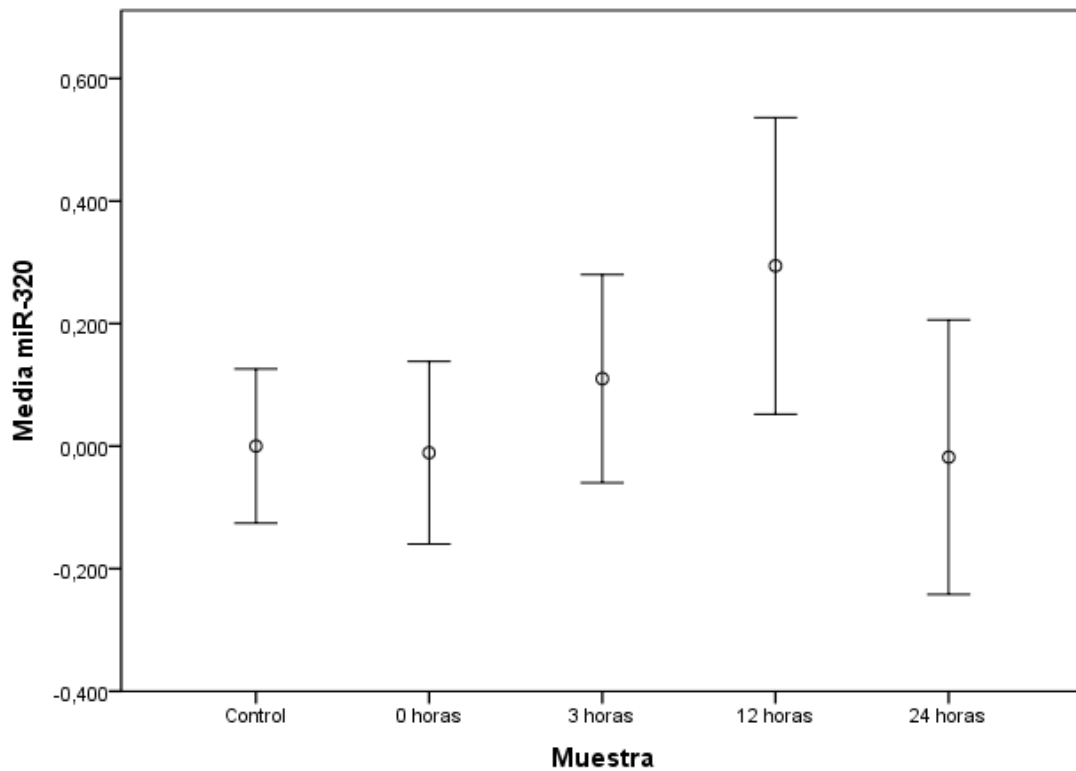
Figura 42: miR-208 en función del desarrollo de remodelado

miR-320

Tabla 25: Estadísticos descriptivos para miR-320

	Media	Desviación estándar
0 horas	0,02	0,16
3 horas	0,14	0,20
12 horas	0,31	0,31
24 horas	-0,02	0,24
Controles	0	0,15

**Figura 43: Diagrama de dispersión para miR-320**



Niveles de miR-320 en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Barras de error: Intervalo de confianza (95 %)

Figura 44: Gráfico de barras de error para miR-320

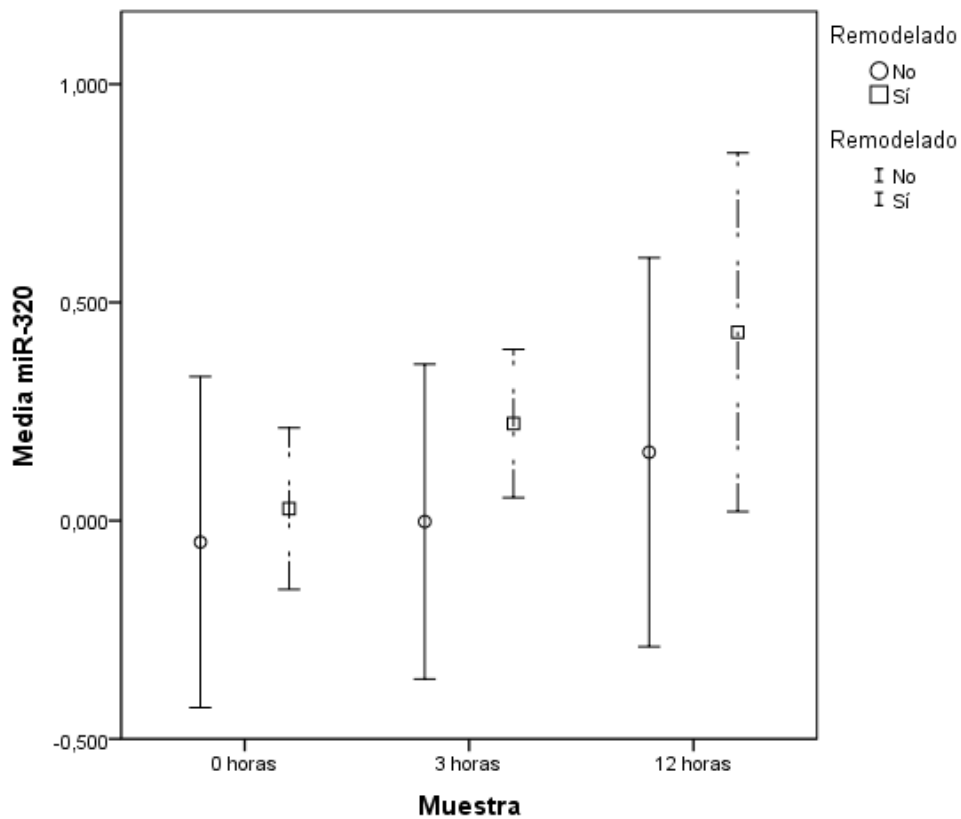
Observamos diferencias significativas entre el grupo control y los valores a las 12 horas ($p=0,023$). No así a las 3 horas ($p= 0,239$).

También se observaron diferencias significativas entre las diferentes muestras de los pacientes aplicando el modelo lineal.

Tabla 26: Modelo lineal general para miR-320

	Significación estadística (p)
Esfericidad Mauchly	0,164
Prueba de efectos intrasujetos (esfericidad asumida)	0,048
0-3 horas	0,311
0-12 horas	0,167
3-12 horas	0,543

Además, al analizar los valores en función del desarrollo del remodelado, se observaron diferencias significativas entre los grupos ($p=0,035$). Al representar los resultados, se observó que los niveles aumentaron en los dos grupos, pero más en los que desarrollaron remodelado.



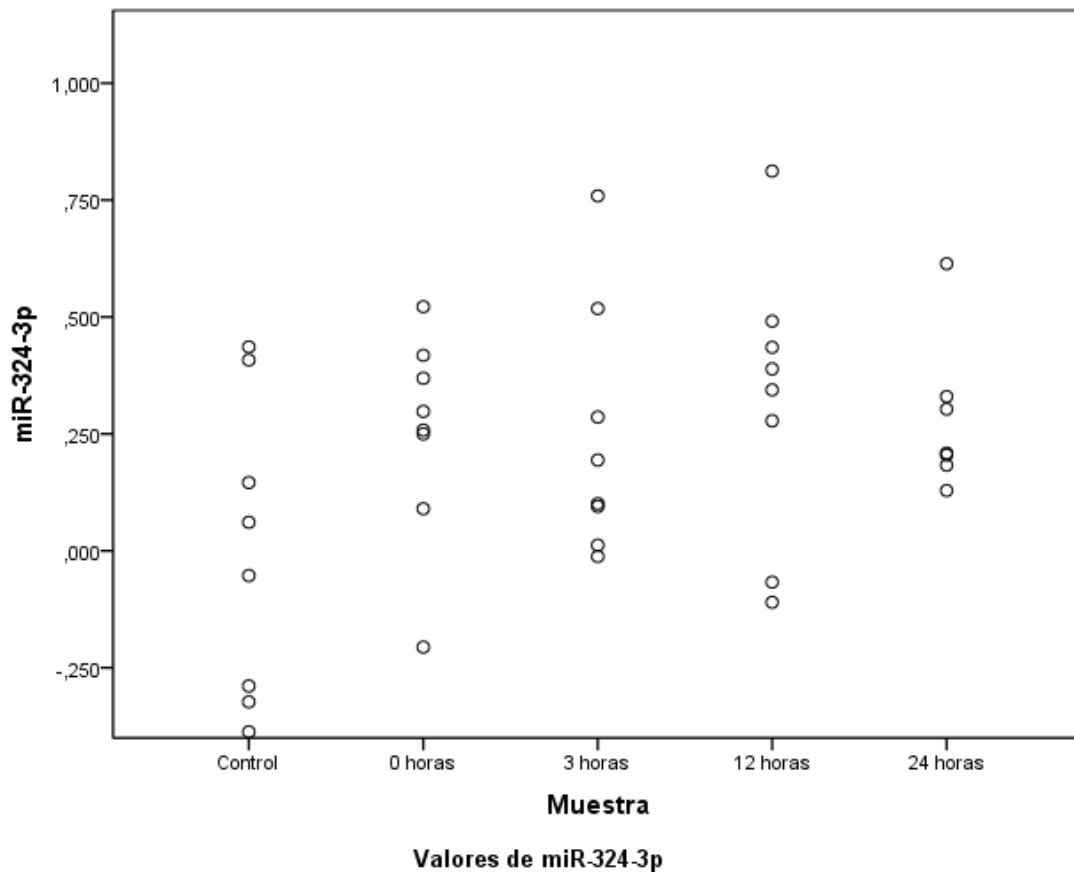
Barras de error de miR-320 en función del remodelado

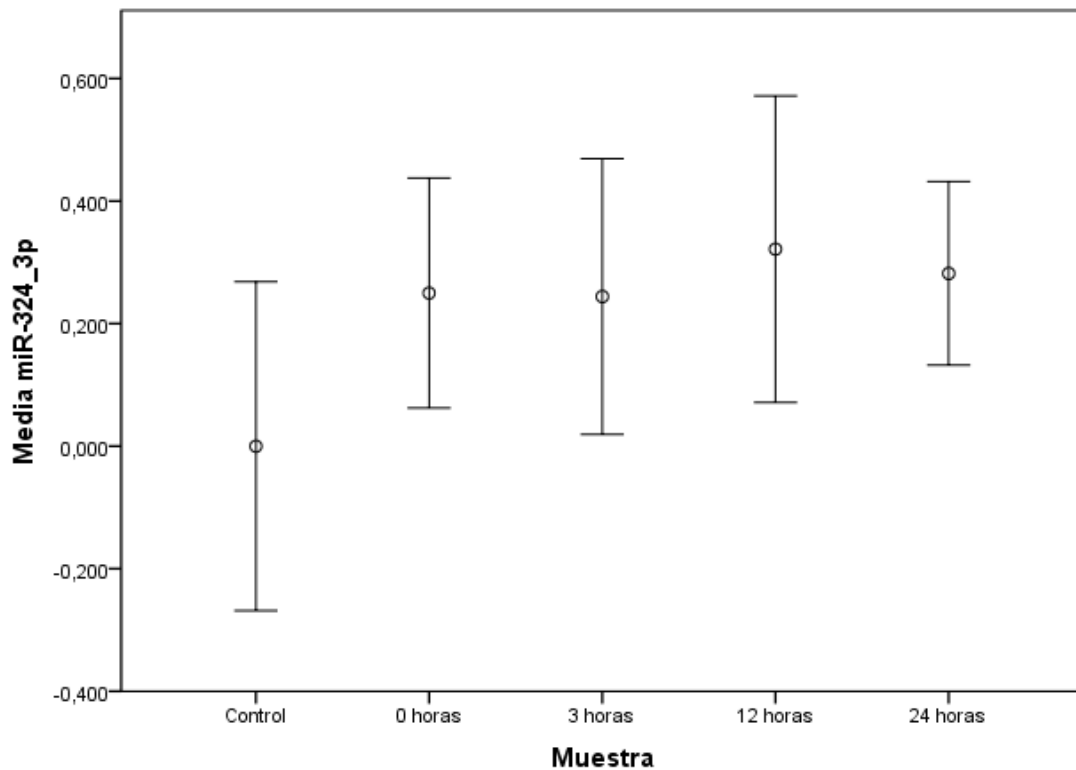
Figura 45: miR-320 en función del desarrollo de remodelado

miR-324-3p

Tabla 177: Estadísticos descriptivos para miR-324-3p

	Media	Desviación estándar
0 horas	0,24	0,24
3 horas	0,17	0,18
12 horas	0,32	0,32
24 horas	0,28	0,16
Controles	0	0,32

**Figura 46: Diagrama de dispersión para miR-324-3p**



Niveles de miR-324-3p en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Barras de error: Intervalo de confianza (95 %)

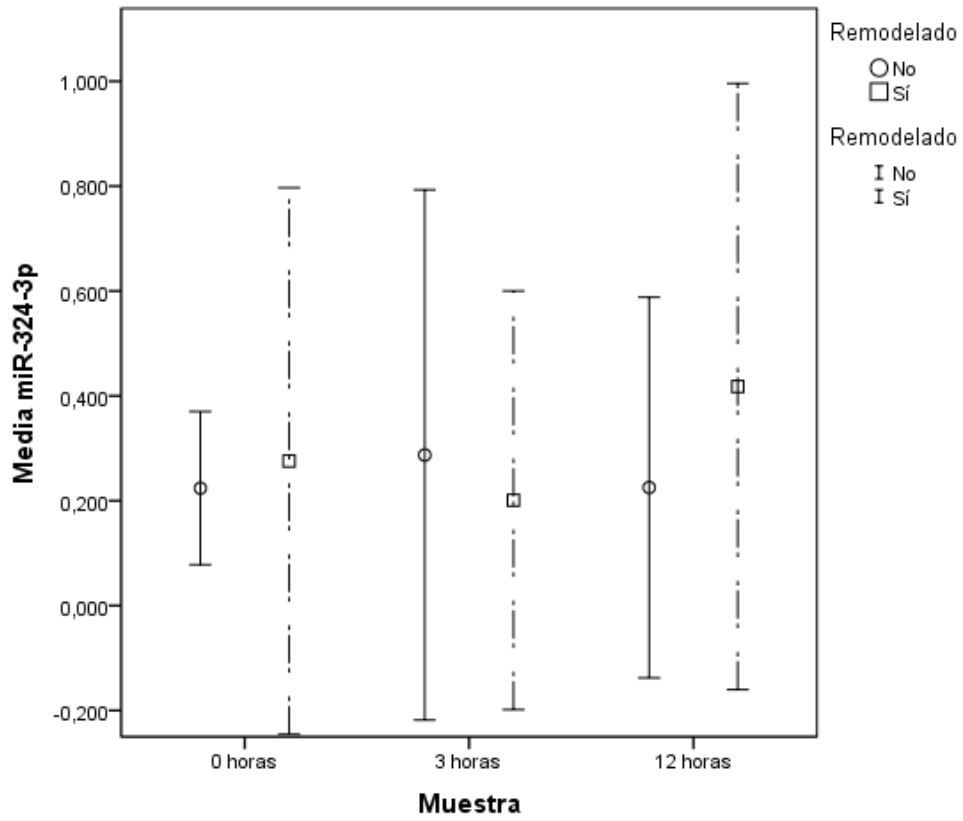
Figura 47: Gráfico de barras de error para miR-324-3p

No hubo diferencias entre los controles y los valores a las 3 horas ($p=0,121$) ni a las 12 horas ($p=0,095$).

Tampoco hubo diferencias entre las muestras de los pacientes en función del tiempo al aplicar el modelo lineal general, ni al analizar los valores en función del remodelado ($p=0,662$).

Tabla 188: Modelo lineal general para miR-324-3p

	Significación estadística (p)
Esfericidad Mauchly	0,509
Prueba de efectos intrasujetos (esfericidad asumida)	0,814



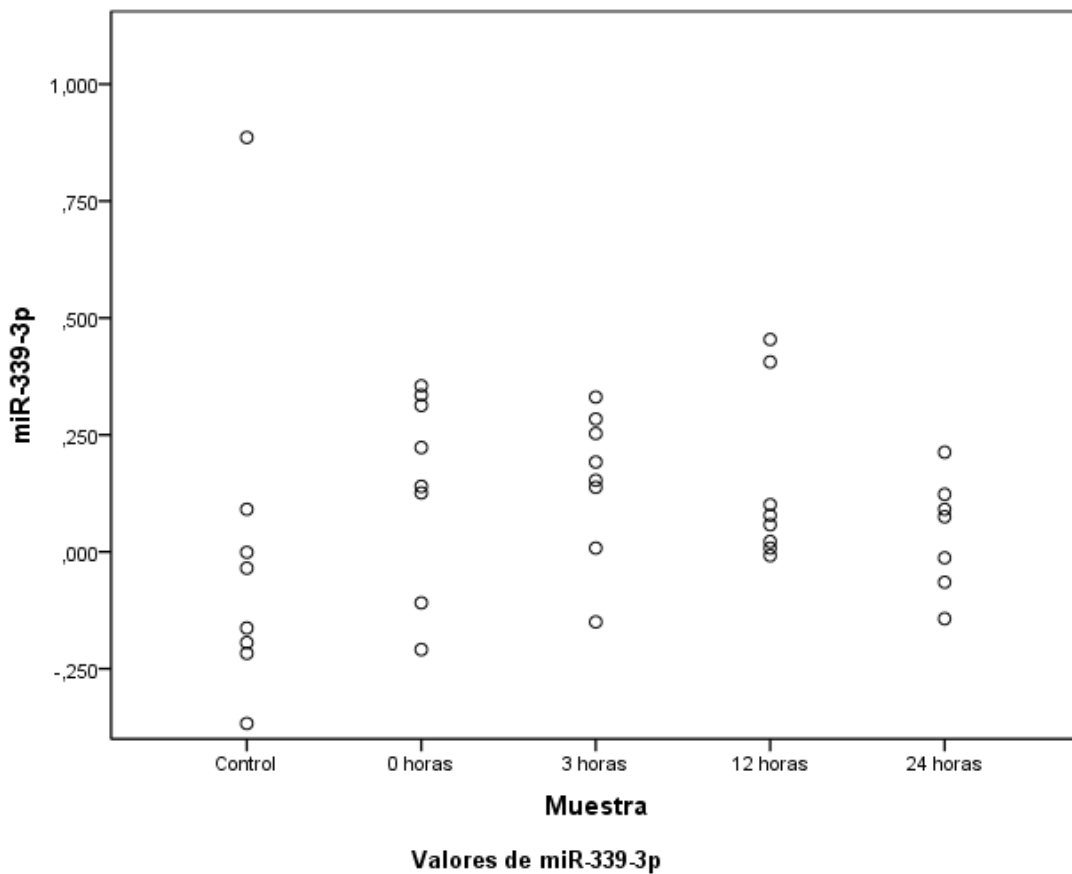
Barras de error de miR-324-3p en función del remodelado

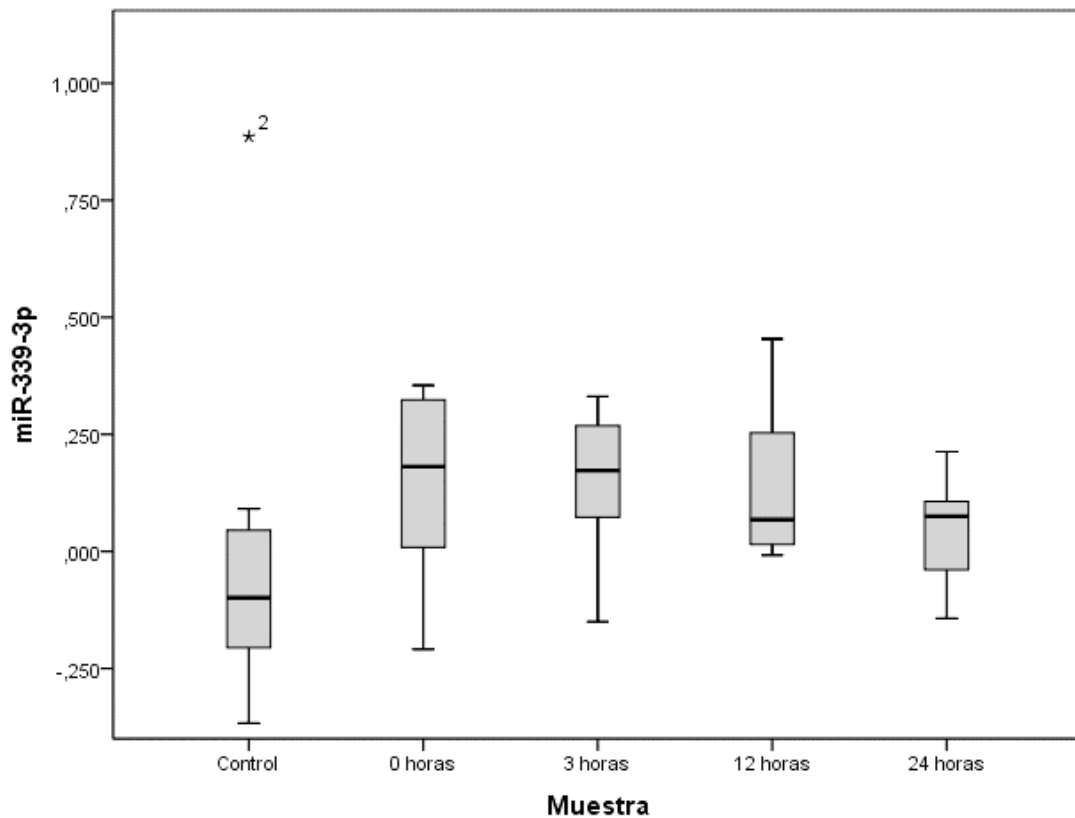
Figura 48: miR-324-3p en función del desarrollo de remodelado

miR-339-3p

Tabla 199: Estadísticos descriptivos para miR-339-3p

	Mediana	Rango intercuartílico
0 horas	0,22	0,44
3 horas	0,19	0,28
12 horas	0,08	0,40
24 horas	0,07	0,19
Controles	-0,10	0,28

**Figura 49: Diagrama de dispersión para mir-339-3p**



Valores de miR-339-3p en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Figura 50: Diagrama de cajas para miR-339-3p

Hubo diferencias significativas entre los valores de los controles y los de los paciente a las 3 horas ($p=0,036$), si bien a las 12 horas la significación (p) fue de 0,059.

Aplicando el test no paramétrico de comparación entre muestras de Friedman no se observaron diferencias significativas ($p= 0,307$).

No hubo diferencias entre los valores pico en relación con el desarrollo de remodelado a las 3 horas ($p=0,343$) ni a las 12 horas ($p=0,686$). Al representar los valores se observan niveles mayores en pacientes que desarrollaron remodelado, pero con un rango muy amplio.

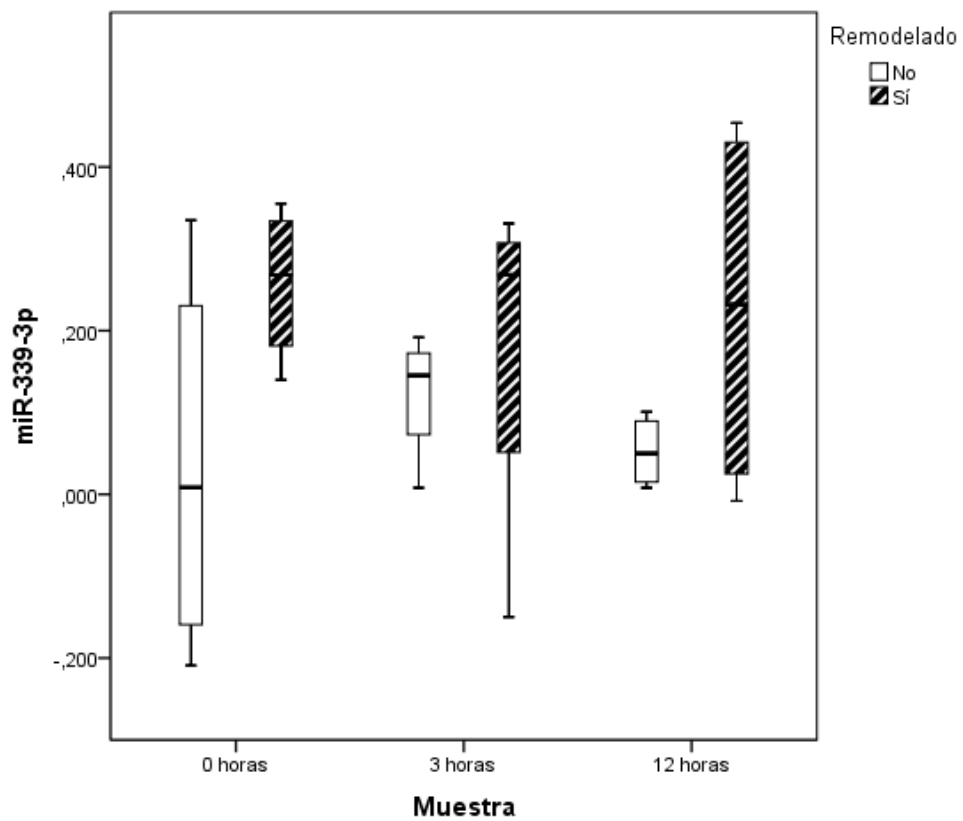


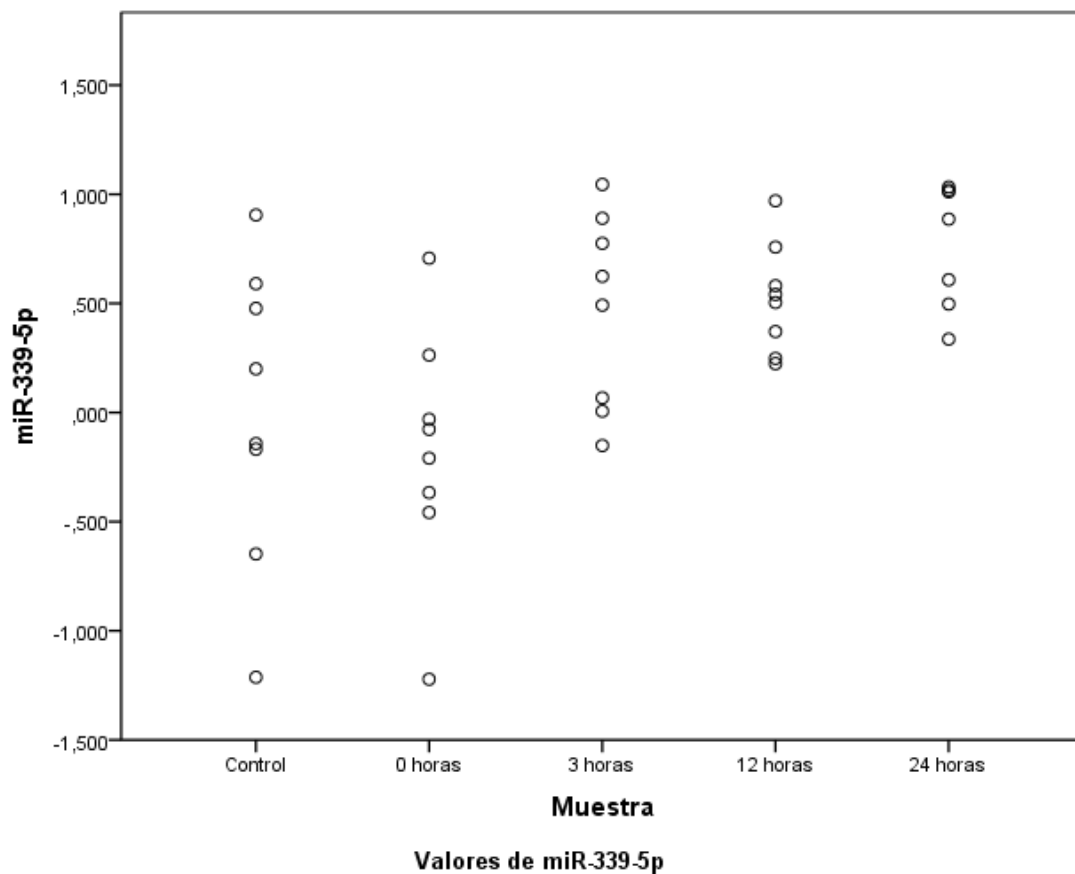
Diagrama de cajas para miR-339-3p según remodelado

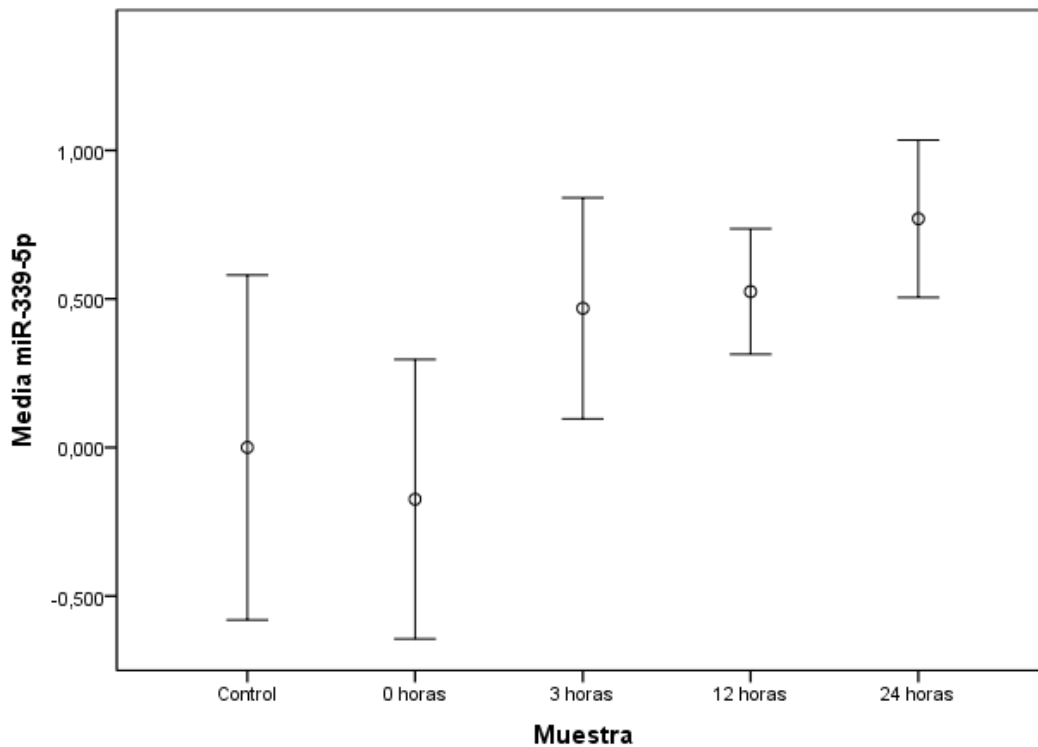
Figura 51: miR-339-3p en función del desarrollo de remodelado

miR-339-5p

Tabla 30: Estadísticos descriptivos para miR-339-5p

	Media	Desviación estándar
0 horas	-0,17	0,61
3 horas	0,53	0,44
12 horas	0,57	0,24
24 horas	0,77	0,29
Controles	0	0,69

**Figura 52: Diagrama de dispersión miR-339-5p**



Niveles de miR-339-5p en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Barras de error: Intervalo de confianza (95 %)

Figura 53: Gráfico de barras de error para miR-339-5p

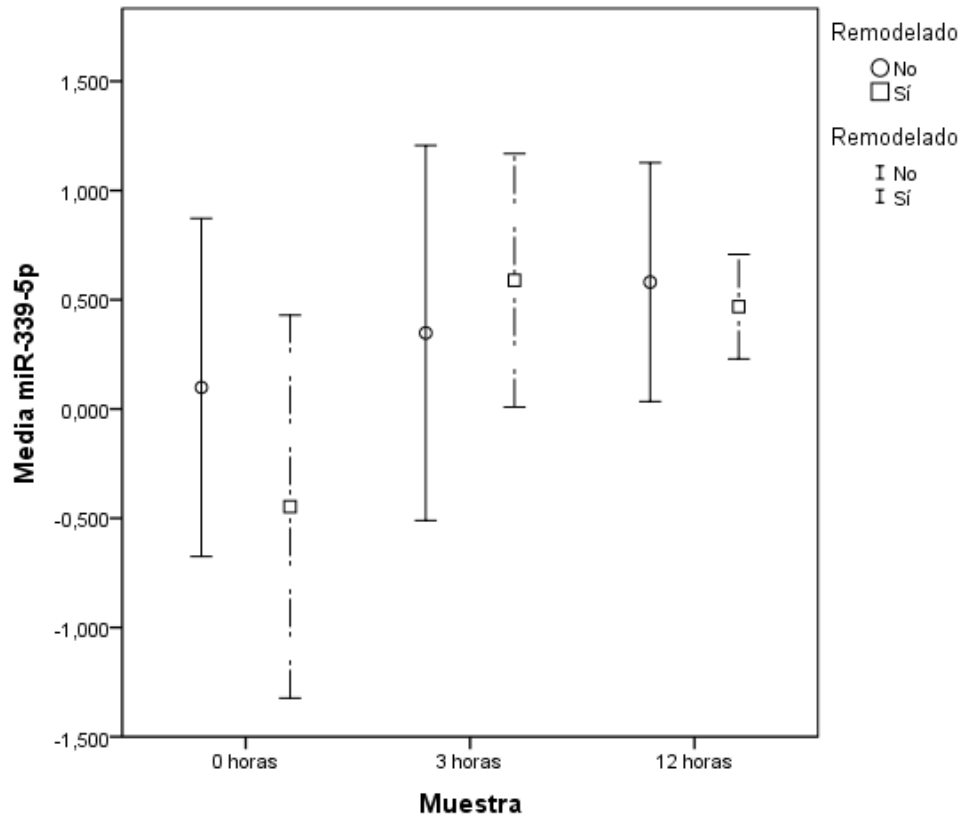
No hubo diferencias significativas entre los controles y los valores a las 3 horas ($p=0,131$) y las 12 horas, si bien en este último caso rozando la significación ($p=0,076$).

Comparando los diferentes puntos horarios se observaron diferencias estadísticamente significativas, especialmente entre las 0 y 12 horas.

Tabla 31: Modelo lineal general para miR-339-5p

	Significación estadística (p)
Esfericidad Mauchly	0,147
Prueba de efectos intrasujetos (esfericidad asumida)	0,019
0-3 horas	0,226
0-12 horas	0,015
3-12 horas	1

Al analizar los valores en función de la presencia de remodelado, no hubo diferencias entre los grupos ($p=0,372$)



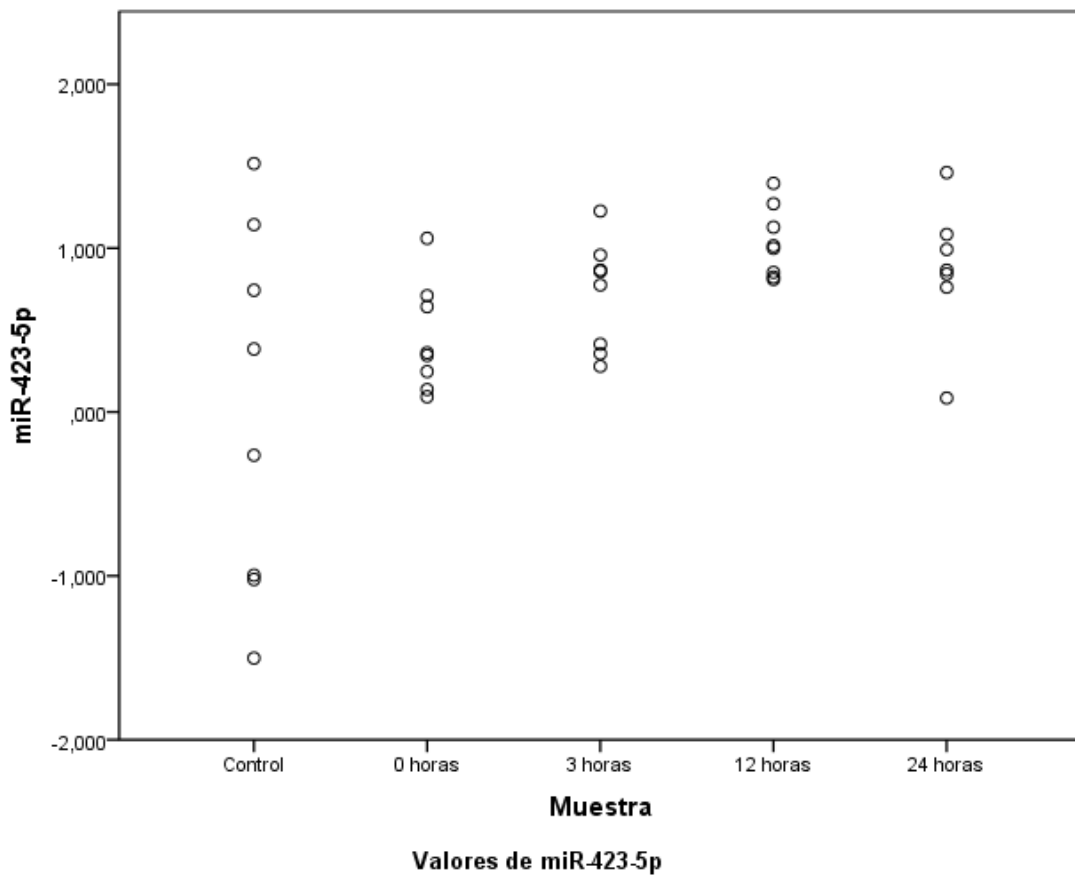
Barras de error de miR-339-5p en función del remodelado

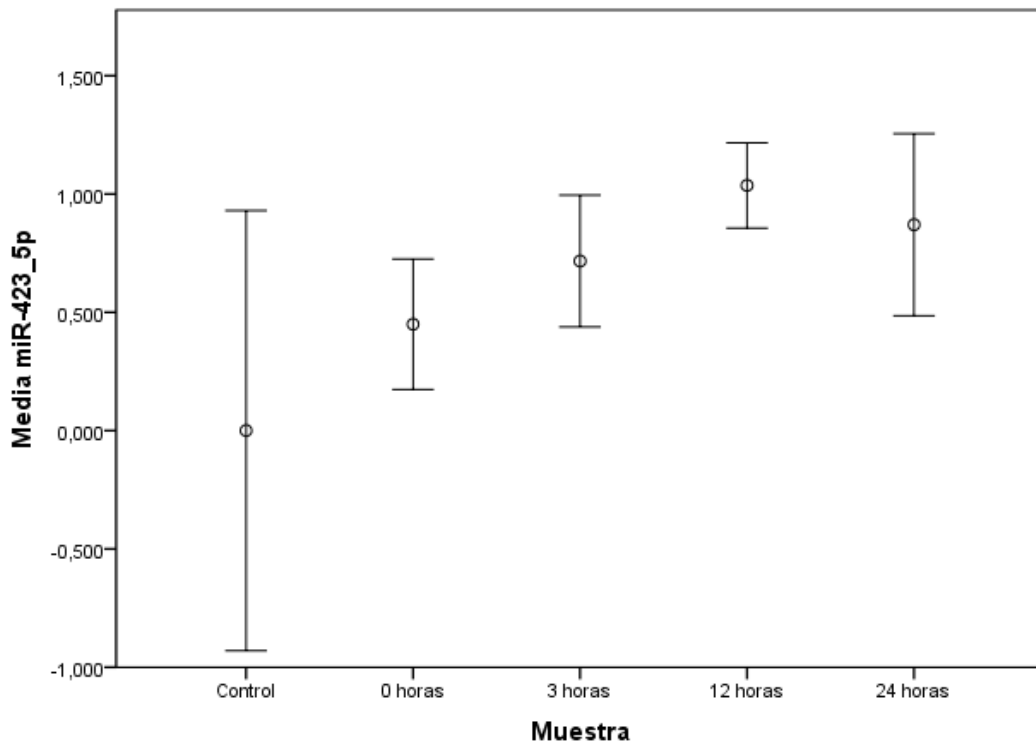
Figura 54: miR-339-5p en función del desarrollo de remodelado

miR-423-5p

Tabla 32: Estadísticos descriptivos para miR-423-5p

	Media	Desviación estándar
0 horas	0,50	0,32
3 horas	0,78	0,30
12 horas	1,07	0,21
24 horas	0,87	0,41
Controles	0	1,11

**Figura 55: Diagrama de dispersión para miR-423-5p**



Niveles de miR-423-5p en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Barras de error: Intervalo de confianza (95 %)

Figura 56: Gráfico de barras de error para miR-423-5p

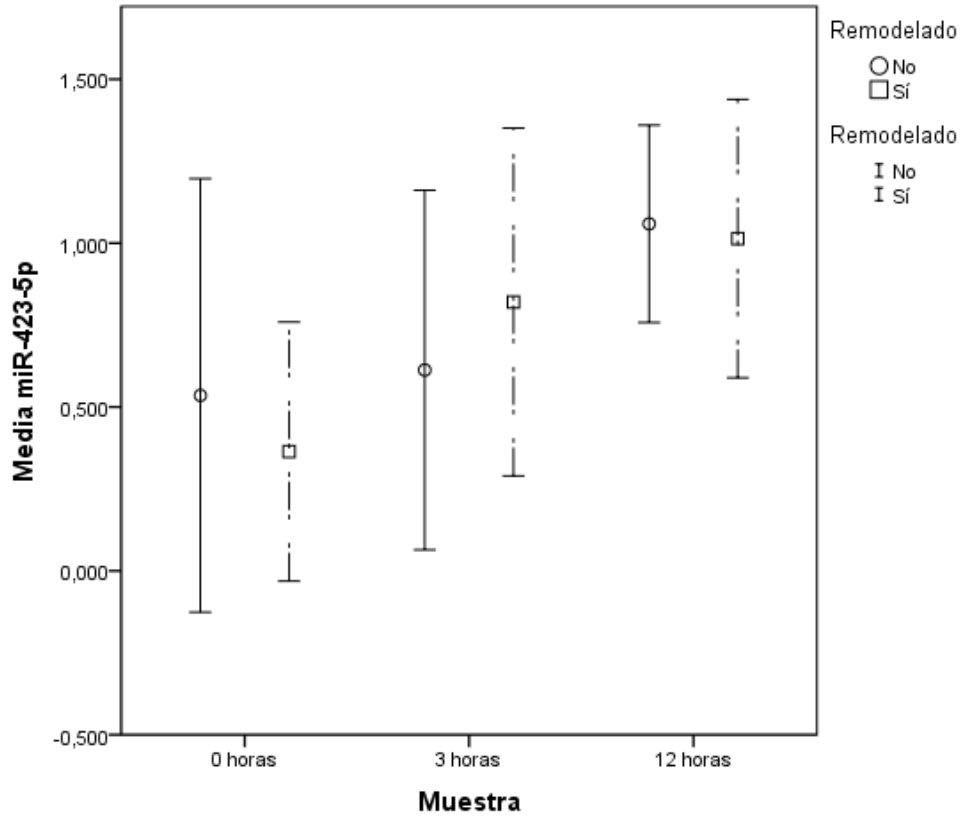
No se observaron diferencias significativas entre los controles ($p=0,103$), pero sí a las 12 horas ($p=0,034$).

Analizando las muestras de los pacientes con infarto, también se observaron diferencias entre los diferentes puntos horarios, especialmente entre las 0 y 12 horas.

Tabla 33: Modelo lineal general para miR-423-5p

	Significación estadística (p)
Esfericidad Mauchly	0,847
Prueba de efectos intrasujetos (esfericidad asumida)	0,004
0-3 horas	0,377
0-12 horas	0,007
3-12 horas	0,212

Al analizar los datos en función de la presencia de remodelado no hubo diferencias entre los grupos ($p=0,984$).



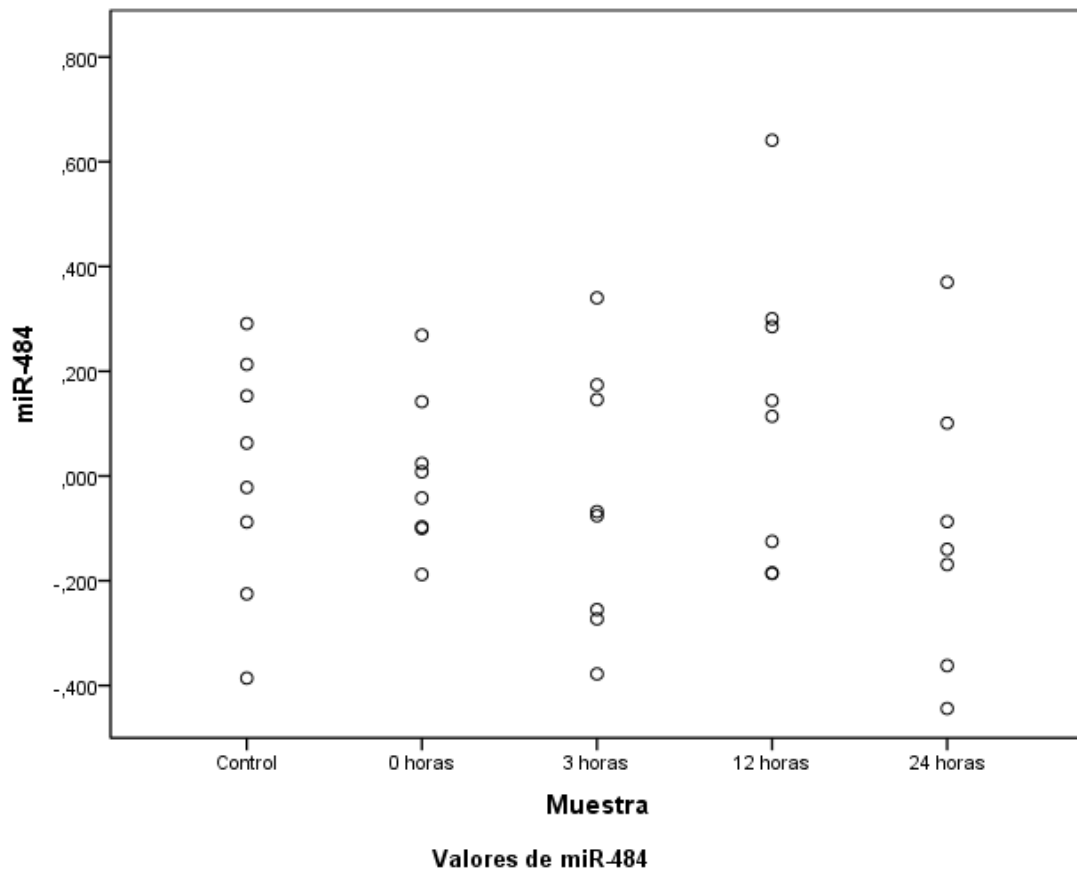
Barras de error de miR-423-5p en función del remodelado

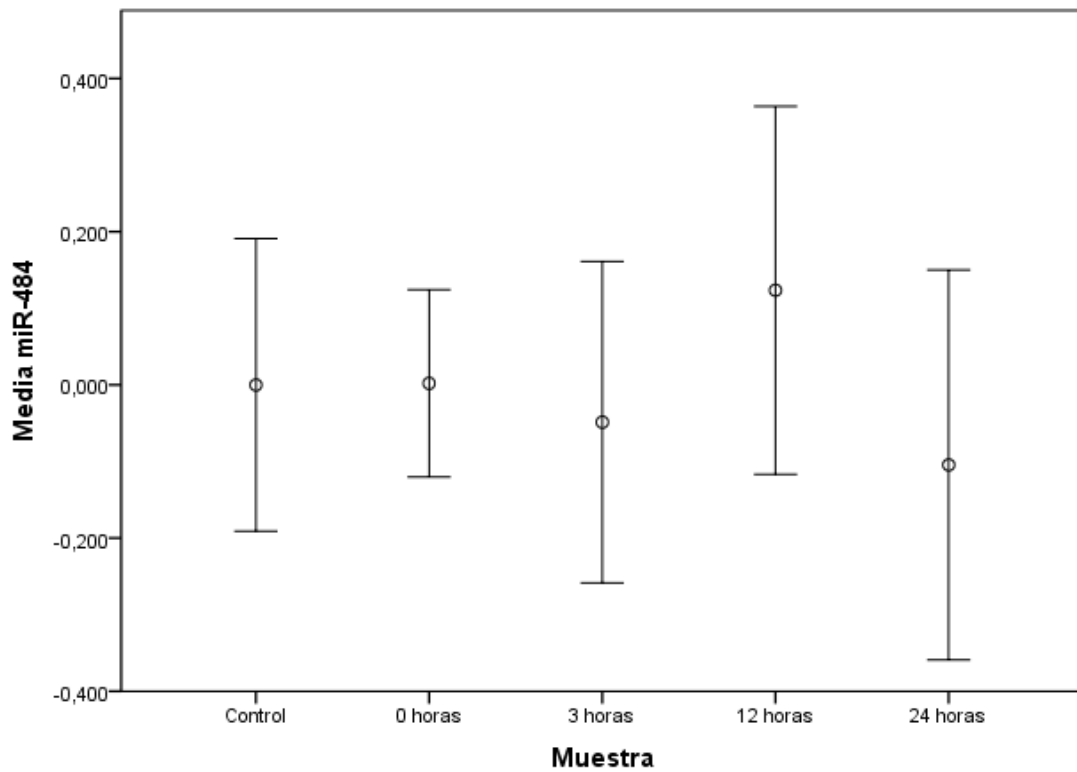
Figura 57: miR-423-5p en función del desarrollo de remodelado

miR-484

Tabla 34: Estadísticos descriptivos para miR-484

	Media	Desviación estándar
0 horas	0,02	0,15
3 horas	-0,05	0,27
12 horas	0,12	0,31
24 horas	-0,10	0,28
Controles	0	0,23

**Figura 58: Diagrama de dispersión para miR-484**



Niveles de miR-484 en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Barras de error: Intervalo de confianza (95 %)

Figura 59: Gráfico de barras de error para miR-484

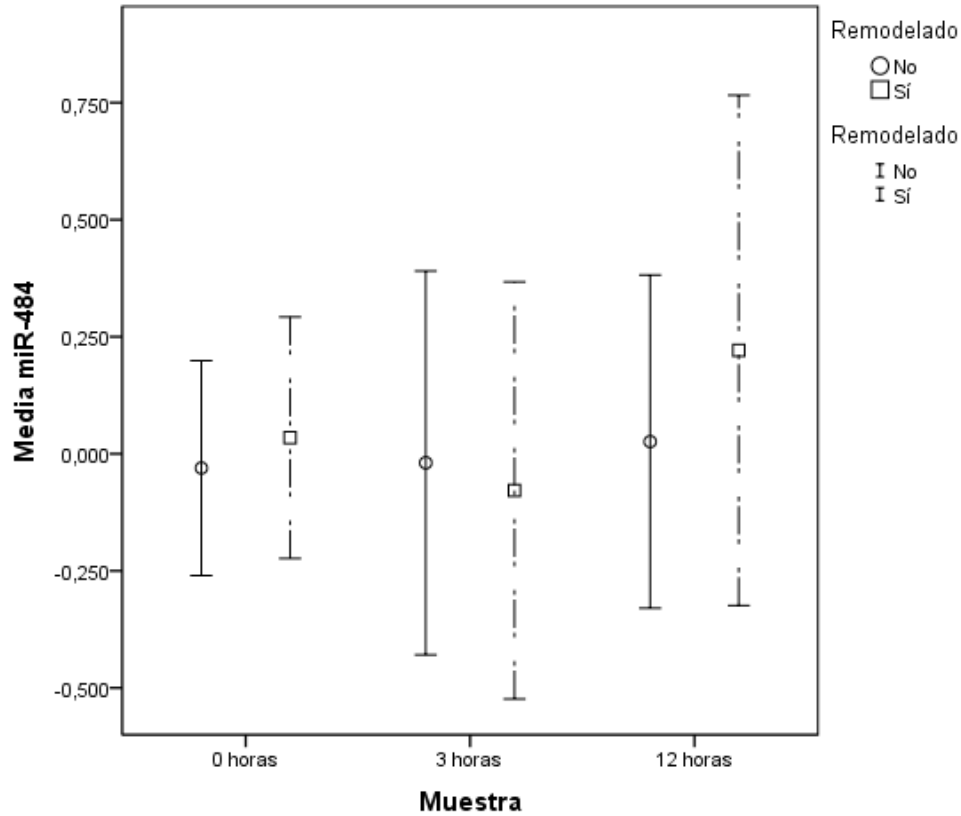
No hubo diferencias significativas entre los valores de los controles y los valores a las 3 horas ($p=0,691$) y 12 horas ($p=0,357$).

Tampoco se observaron diferencias significativas entre las muestras de los pacientes con infarto.

Tabla 35: Modelo lineal general para miR-484

	Significación estadística (p)
Esfericidad Mauchly	0,013
Prueba de efectos intrasujetos (límite inferior)	0,356

No se observaron diferencias al analizar los datos en función de la aparición de remodelado ($p=0,447$).



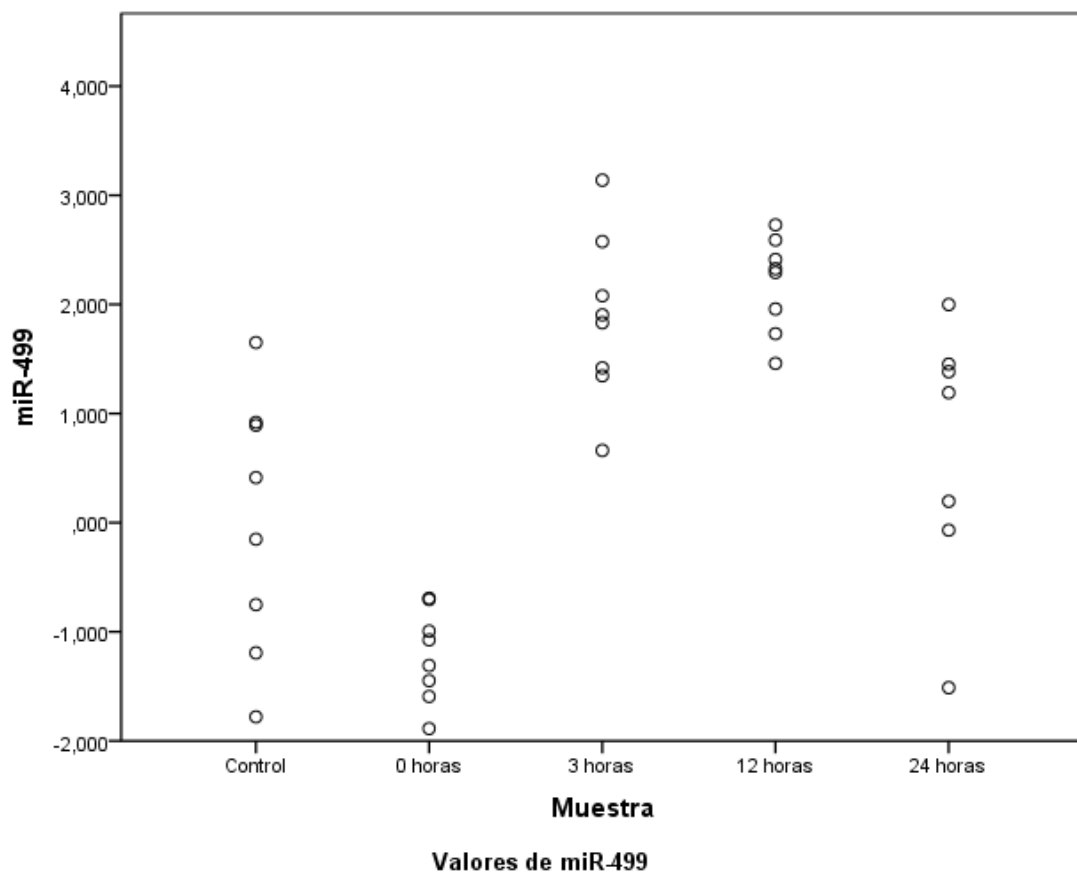
Barras de error de miR-484 en función del remodelado

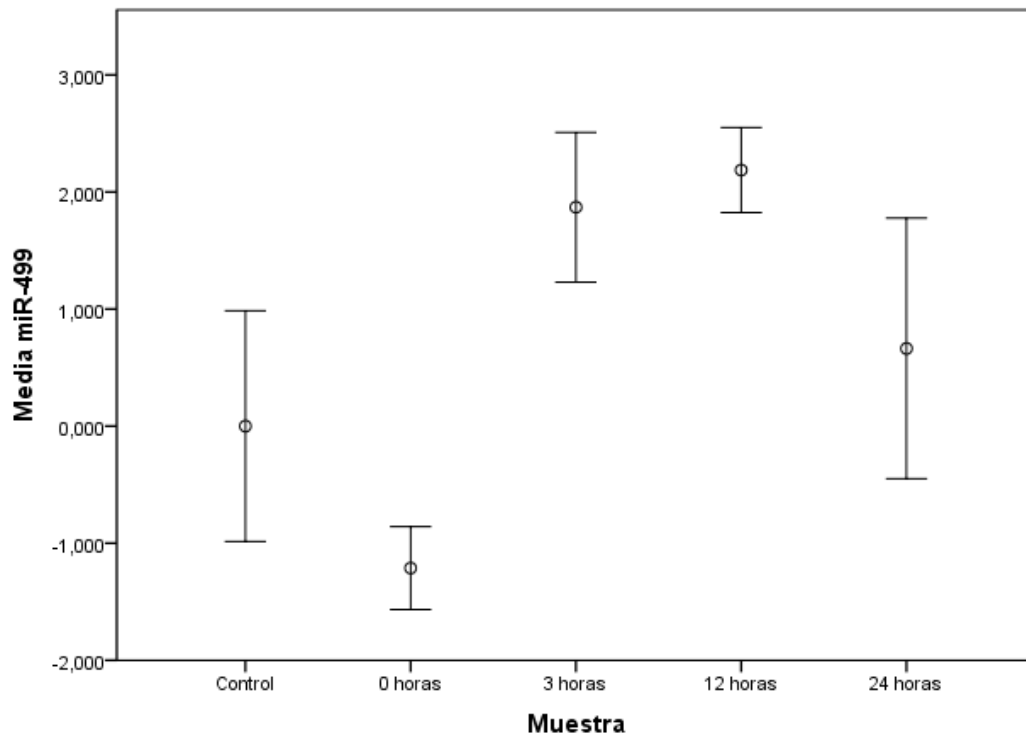
Figura 60: miR-484 en función del desarrollo de remodelado

miR-499

Tabla 36: Estadísticos descriptivos para miR-499

	Media	Desviación estándar
0 horas	-1,18	0,45
3 horas	1,94	0,79
12 horas	2,17	0,47
24 horas	0,66	1,20
Controles	0	1,18

**Figura 61: Diagrama de dispersión para miR-499**



Niveles de miR-499 en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Barras de error: Intervalo de confianza (95 %)

Figura 62: Gráfico de barras de error para miR-499

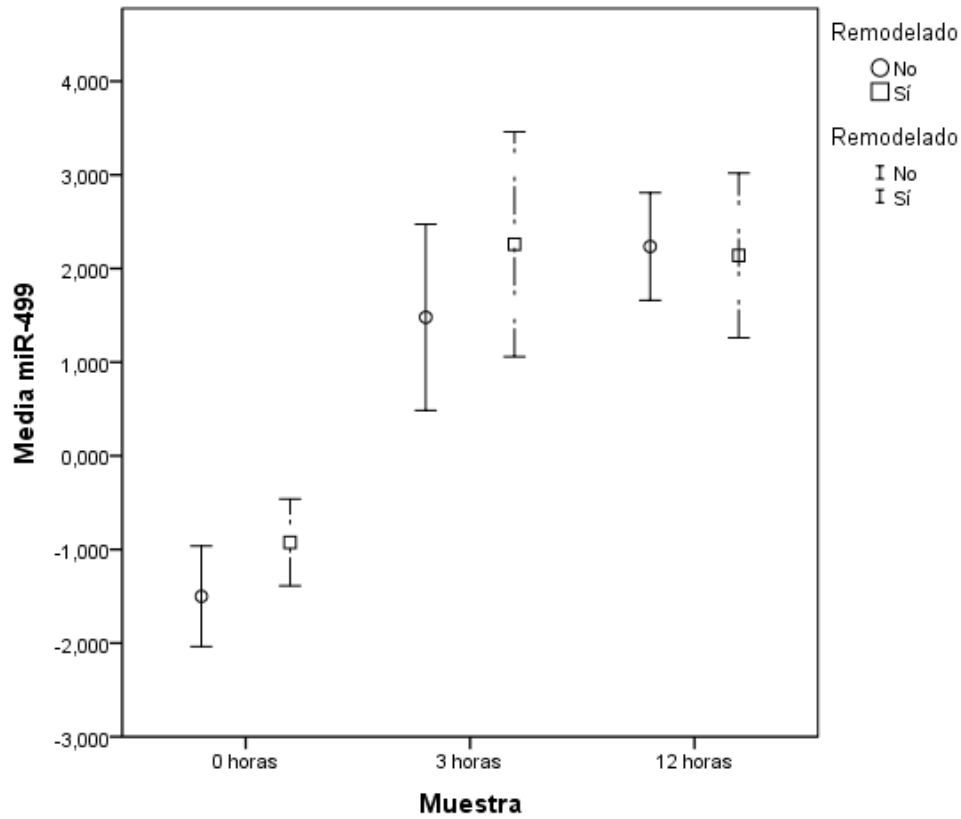
Hubo diferencias fuertemente significativas entre los valores de los controles y las muestras de los pacientes a las 3 horas ($p=0,002$) y las 12 horas ($p=0,000$).

También hubo diferencias fuertemente significativas entre los valores de miR-499 en las muestras de los pacientes aplicando el modelo lineal general.

Tabla 37: Modelo lineal general para miR-499

	Significación estadística (p)
Esfericidad Mauchly	0,815
Prueba de efectos intrasujetos (esfericidad asumida)	0,000
0-3 horas	0,000
0-12 horas	0,000
3-12 horas	0,628

No hubo diferencias en función de la aparición de remodelado ($p=0,107$).



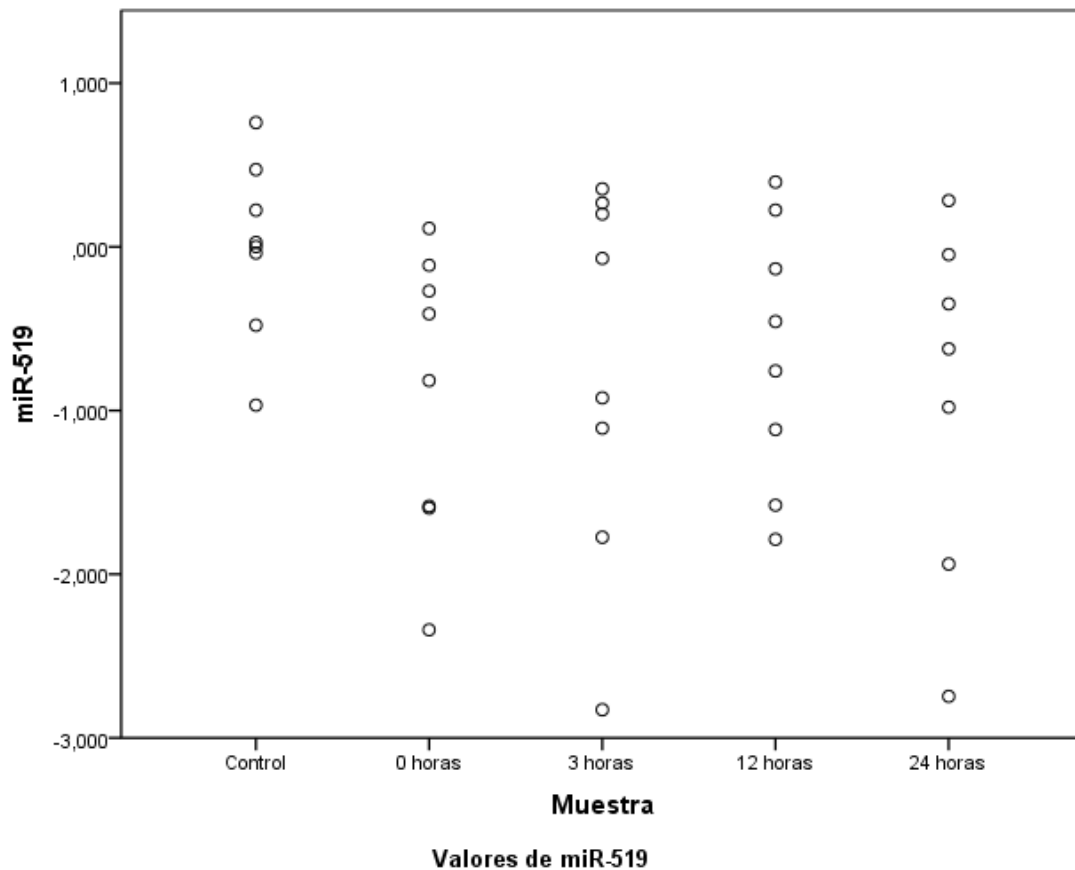
Barras de error de miR-499 en función del remodelado

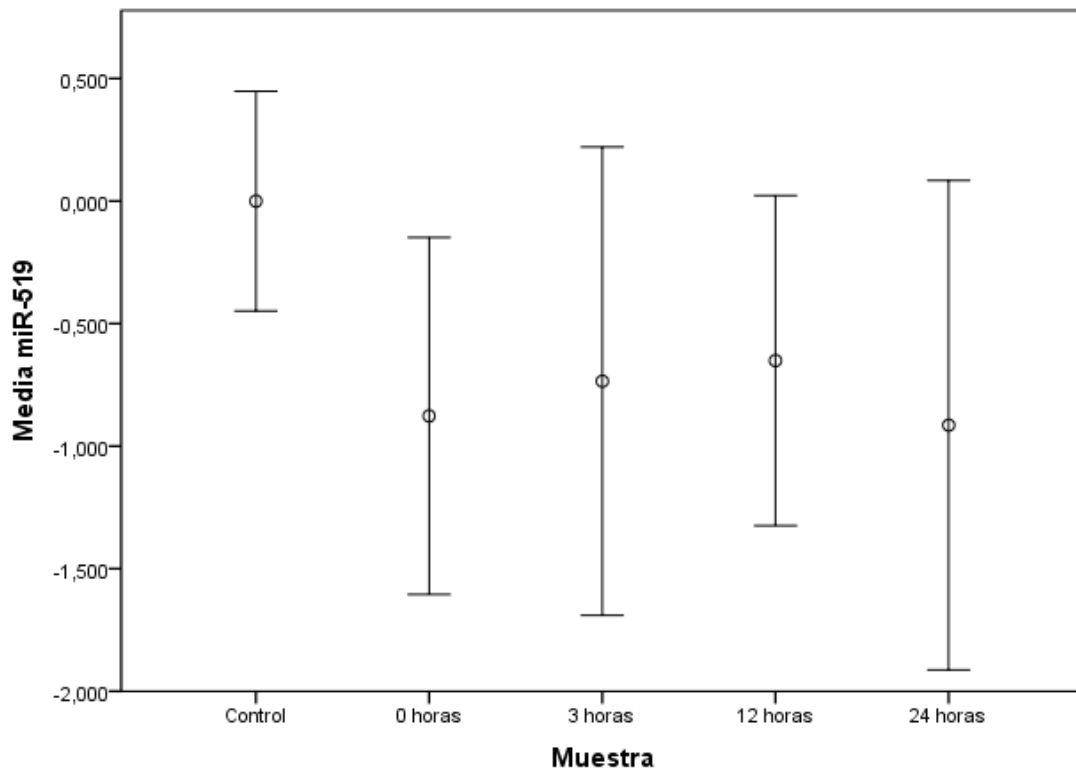
Figura 63: miR-499 en función del desarrollo de remodelado

miR-519

Tabla 38: Estadísticos descriptivos para miR-519

	Media	Desviación estándar
0 horas	-0,67	0,69
3 horas	-0,44	0,83
12 horas	-0,68	0,87
24 horas	-0,91	1,08
Controles	0	0,54

**Figura 64: Diagrama de dispersión para miR-519**



Niveles de miR-519 en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Barras de error: Intervalo de confianza (95 %)

Figura 65: Gráfico de barras de error para miR-519

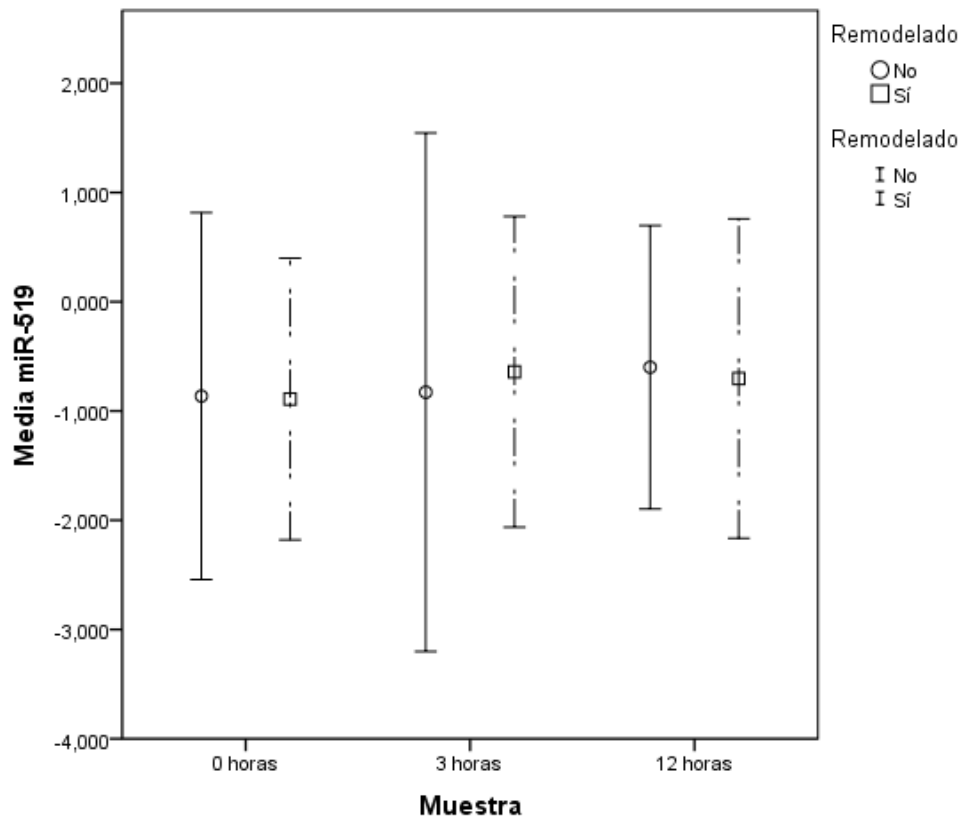
No hubo diferencias significativas entre los controles y los valores a las 3 horas ($p=0,122$) ni a las 12 horas, si bien en este caso con $p=0,078$.

Tampoco hubo diferencias entre las muestras procedentes de los pacientes.

Tabla 3920: Modelo lineal general para miR-519

	Significación estadística (p)
Esfericidad Mauchly	0,758
Prueba de efectos intrasujetos (esfericidad asumida)	0,839

No hubo diferencias al analizar los valores en función de la presencia de remodelado posterior ($p=0,974$)



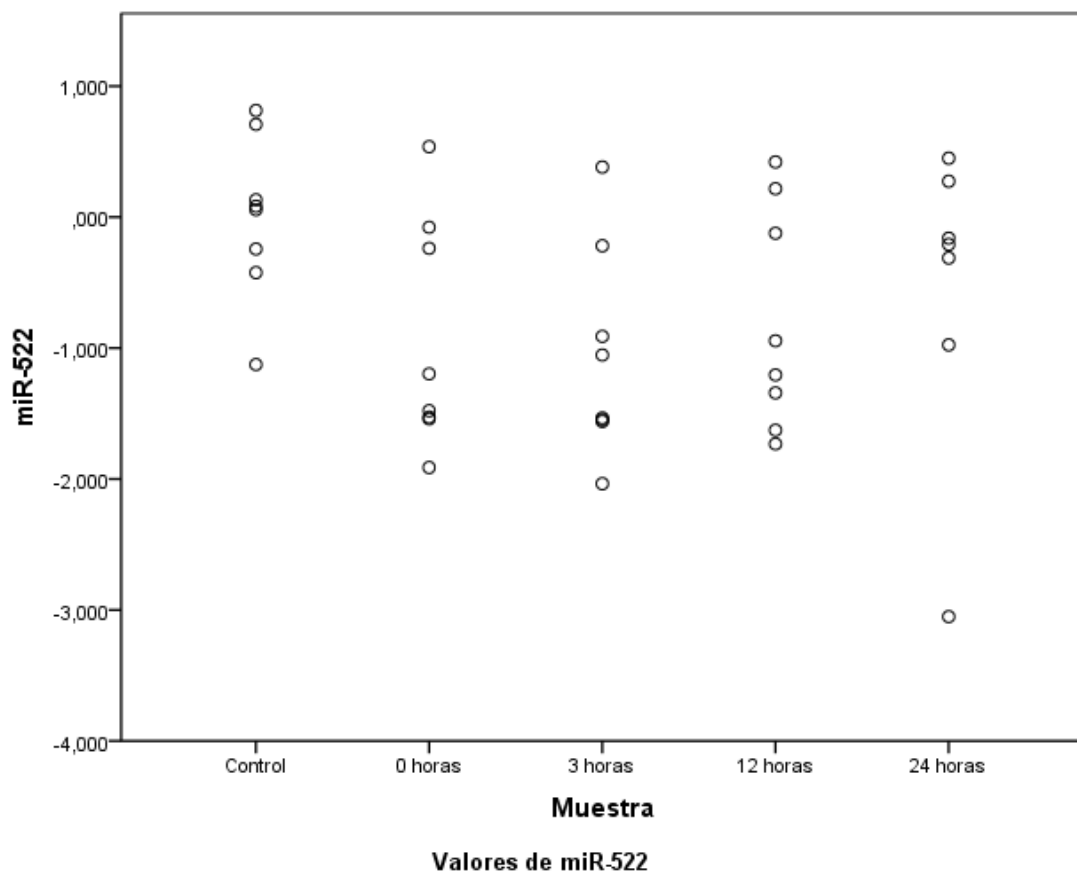
Barras de error de miR-519 en función del remodelado

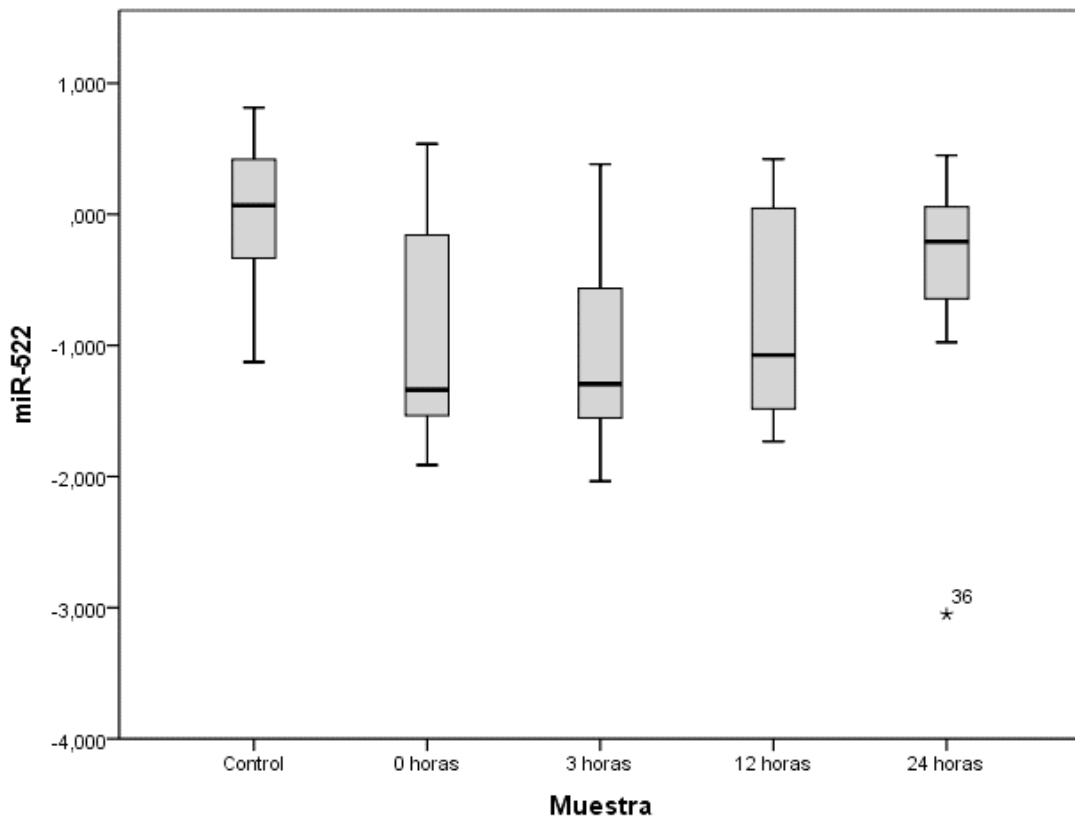
Figura 66: miR-519 en función del desarrollo de remodelado

miR-522

Tabla 40: Estadísticos descriptivos para miR-522

	Mediana	Rango intercuartílico
0 horas	-1,48	1,30
3 horas	-1,05	1,34
12 horas	-1,21	1,84
24 horas	-0,21	1,25
Controles	0,07	0,94

**Figura 67: Diagrama de dispersión para miR-522**



Valores de miR-522 en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Figura 68: Diagrama de cajas para miR-522

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de los controles y los valores a las 3 horas ($p=0,027$). No así entre los controles y los valores a las 12 horas ($p=0,093$).

No hubo diferencias significativas entre las muestras de los pacientes al aplicar el test de comparación entre muestras de Friedman: $p=0,692$.

Tampoco se observaron diferencias entre los pacientes en función de la aparición de remodelado a las 3 horas ($p=0,386$) ni a las 12 horas ($p=0,686$).

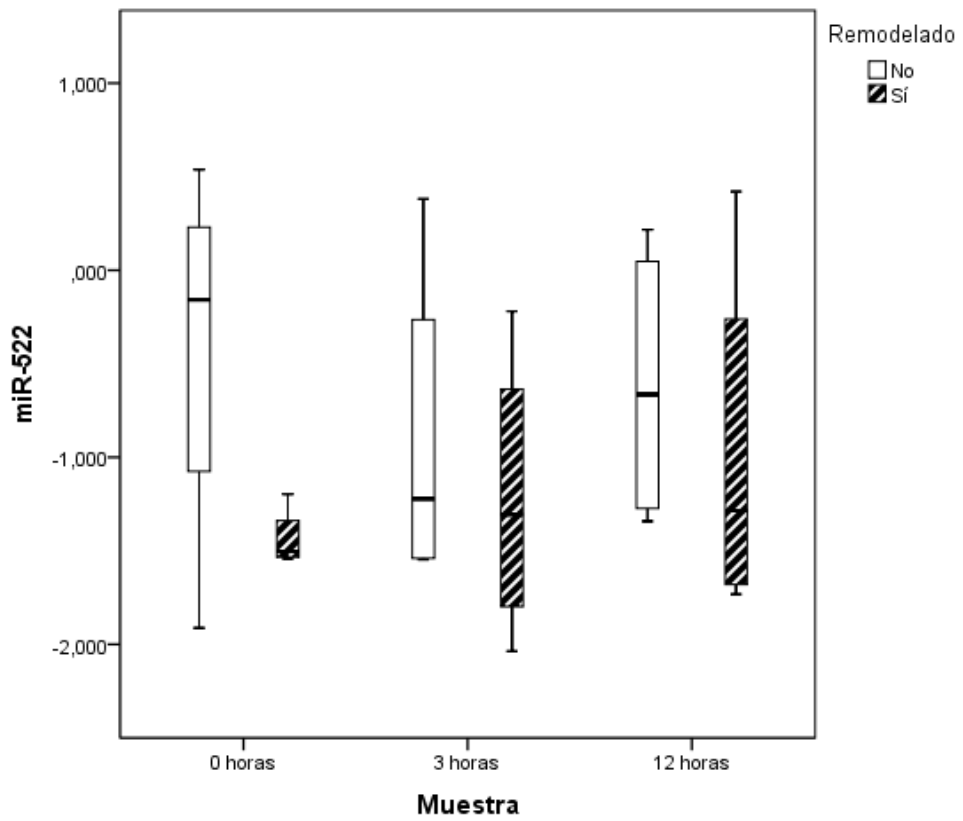


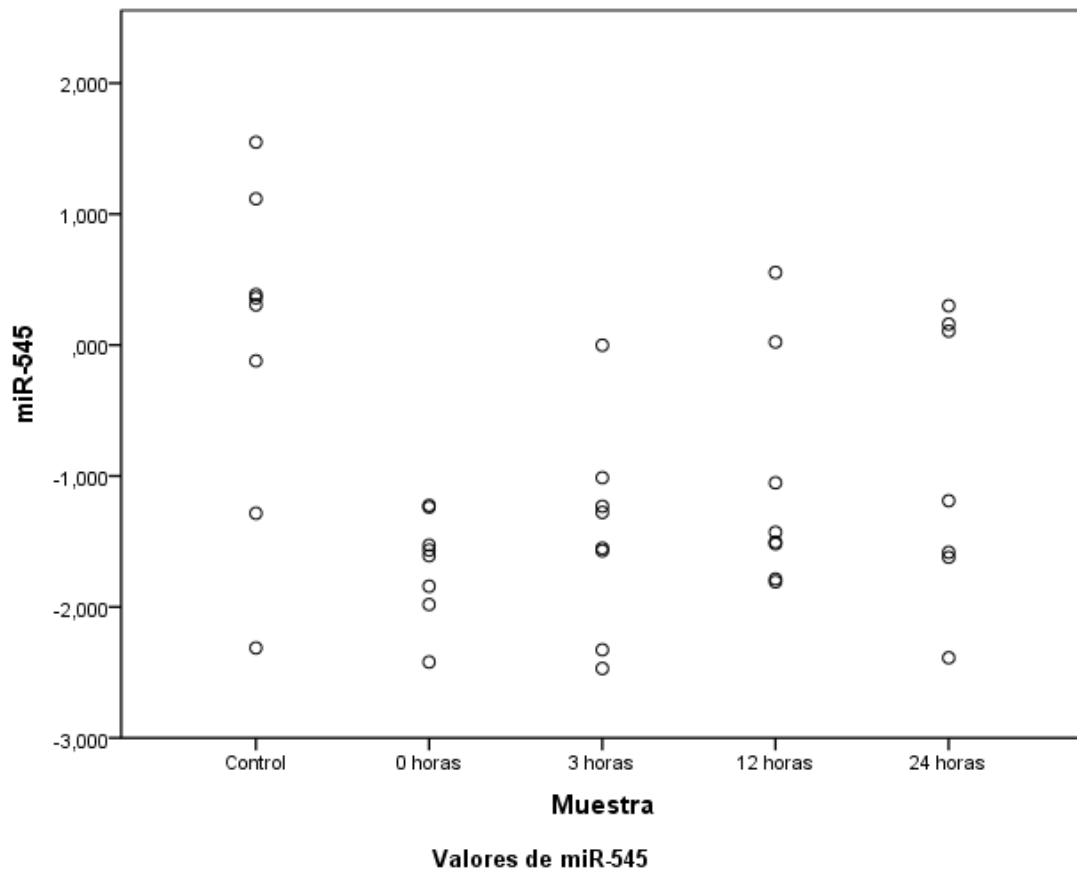
Diagrama de cajas para miR-522 según remodelado

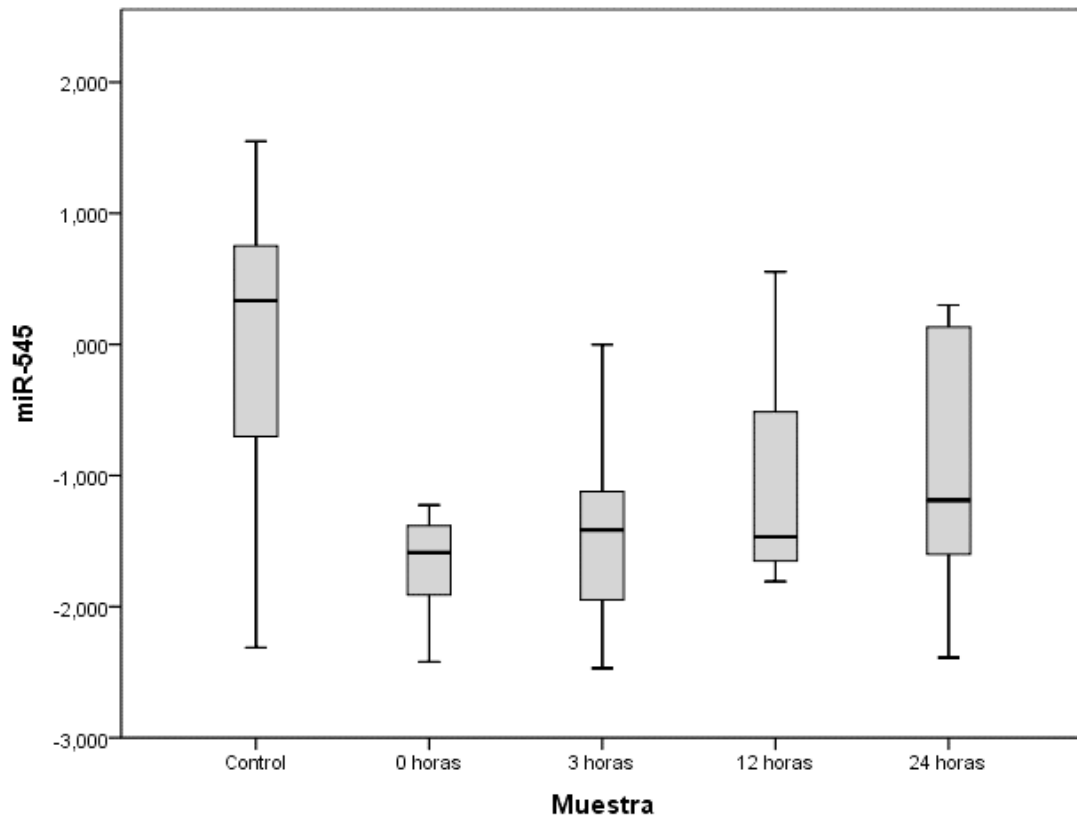
Figura 69: miR-522 en función del desarrollo de remodelado

miR-545

Tabla 41: Estadísticos descriptivos para miR-545

	Mediana	Rango intercuartílico
0 horas	-1,57	0,60
3 horas	-1,28	0,56
12 horas	-1,50	1,81
24 horas	-1,19	1,78
Controles	0,33	1,93

**Figura 70: Diagrama de dispersión para miR-545**



Valores de miR-545 en controles y las diferentes muestras de los pacientes

Figura 71: Diagrama de cajas para miR-545

También en este caso hubo diferencias entre los valores entre los controles y los valores a las 3 horas ($p=0,027$) y no a las 12 horas ($p=0,093$).

Sin embargo, no hubo diferencias entre las muestras de los diferentes puntos horarios de los pacientes con infarto: $p= 0,692$

Tampoco se observaron diferencias en cuanto a la aparición de remodelado a las 3 horas ($p=0,386$) ni a las 12 horas ($p=0,886$).

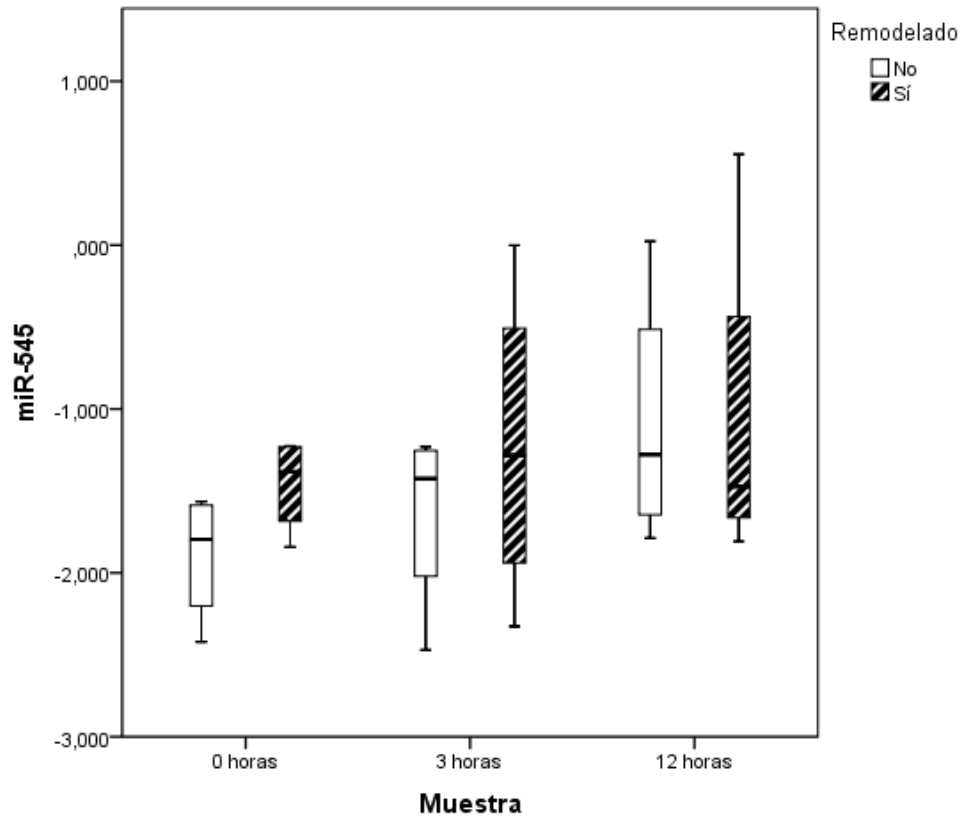


Diagrama de cajas para miR-545 según remodelado

Figura 72: miR-545 en función del desarrollo de remodelado

6. DISCUSIÓN

Nuestro estudio plantea intentar caracterizar los microRNAs que se liberan en el contexto del infarto agudo de miocardio con elevación del ST, en condiciones lo más parecidas posibles a un modelo de isquemia-reperusión. Por ello se incluyeron pacientes que tuvieran entre 2 y 6 horas de dolor, con objeto de que hubiese un tiempo suficiente para producir daño miocárdico y que no hubiese transcurrido demasiado tiempo para que el miocardio ya no fuese viable. Se exigió también que en el momento del cateterismo la arteria estuviese cerrada (flujo TIMI 0) para asegurar que se reprodujera el modelo de isquemia-reperusión.

Asimismo, dado que se pretendía valorar la presencia de remodelado, se limitó el estudio a pacientes con infartos debidos a oclusión trombótica de la arteria descendente anterior, pues son los que presentan mayor probabilidad de remodelado e insuficiencia cardíaca en el seguimiento. Esto se hizo además para intentar obtener una muestra homogénea de pacientes.

El hecho de que los criterios de inclusión fuesen, como hemos comentado, restrictivos hizo que el reclutamiento fuese lento.

Por motivos económicos teníamos disponible un número limitado del kit “Megaplex Primer Pools, Human Pools A v2.1” de Applied Biosystems, con el que podíamos realizar un array de expresión de los 384 microRNAs más importantes en humanos. Por esta razón, al elaborar el protocolo de estudio se decidió realizar este análisis en muestras de 8 pacientes extraídas 3 horas tras la apertura del vaso, con objeto de que ya se hubiesen liberado tanto microRNAs relacionados con el proceso de isquemia-necrosis como con el de reperusión.

Estas muestras se compararían con las procedentes de 3 controles, que serían pacientes sometidos a cateterismo por dolor torácico pero que no tenían lesiones coronarias, que sirvieron como controles.

El obligado reducido número de pacientes y controles limitaba a priori el valor de los resultados; no obstante, esperábamos poder encontrar algunos microRNAs con expresión diferencial con respecto a los controles y que no se hubiesen descrito previamente.

Una limitación de la técnica para el análisis de los microRNAs es la ausencia de unos niveles de referencia establecidos para su medida. Los valores deben referirse a unos determinados endógenos cuyos valores se suponen estables en todos los pacientes, o bien con respecto a un grupo control. Sin embargo, en función de la referencia empleada los resultados pueden diferir. En nuestro caso realizamos en varias ocasiones los análisis, escogiendo los microRNAs cuyos resultados fueran consistentes en la mayoría de los casos.

Estos resultados debían luego confirmarse con la realización de las curvas de liberación (a las 0, 3, 12 y 24 horas de la apertura del vaso) de 20 microRNAs, seleccionados tanto por los resultados de los arrays de expresión realizados como por los resultados recogidos en la bibliografía, así como la inclusión de un número mayor de controles.

Se pretendía correlacionar los resultados con la presencia de non-reflow como marcador de la presencia de daño por reperfusión, así como por el desarrollo de remodelado, si bien teniendo en cuenta que por las limitaciones determinadas del escaso tamaño muestral los resultados serían limitados. Sólo

un paciente de nuestra muestra desarrolló un non-reflow manifiesto, por lo que desestimamos un análisis en este sentido. No obstante, la mitad de los pacientes de nuestra muestra desarrolló en el seguimiento remodelado y disfunción ventricular, lo que permitió intentar analizar si existían microRNAs con expresión diferencial entre los pacientes que los desarrollaron y los que no.

Por tanto, creemos que el valor de nuestro estudio radica en la homogeneidad de la muestra de pacientes y que intenta reproducir en la clínica un modelo puro de isquemia-reperfusión, identificando microRNAs que se liberen en este contexto y no hubiesen sido descritos. La limitación obvia es el escaso tamaño muestral, que hace que las conclusiones deban confirmarse con estudios de mayor tamaño.

A continuación analizaremos los resultados de los 20 microRNAs seleccionados.

miR-1

En nuestro estudio se observó una curva de liberación de miR-1 en los pacientes con IAM, con diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes puntos de la curva (tabla 9). El aumento fue precoz, observándose niveles elevados ya a las 3 horas, manteniéndose con un ligero aumento a las 12 horas y descendiendo posteriormente. No hubo diferencias con el grupo control de los valores a las 3 horas y 12 horas, pues los valores del grupo control estaban más elevados que los que se obtuvieron al comenzar el cateterismo, y además presentaban una mayor dispersión (figuras 13 y 14).

No hubo diferencias entre los pacientes que desarrollaron remodelado y los que no (figura 15).

Este resultado concuerda con estudios previos publicados previamente, donde de forma consistente se observó un aumento de los niveles de miR-1 en el infarto agudo de miocardio, estudiándose su utilidad como biomarcador.

Así, en un estudio con 93 pacientes con IAM y 66 controles se encontró que miR-1 estaba significativamente elevado en los pacientes con infarto con respecto a los controles, con un AUC de 0,77 ⁽⁷⁴⁾.

En otro estudio que incluyó a 444 pacientes con síndrome coronario agudo se analizaron los niveles de miR-1, miR-133a, miR-133b, miR-208a, miR-208b y miR-499 en muestras obtenidas al ingreso, observándose una correlación entre los niveles de TnT ultrasensible y los valores de miR-1, miR-133a, miR-133b y miR-208b. Si bien había mayores niveles de miR-1, miR-133a y miR-208b en los pacientes con IAM frente a los que presentaban

angina inestable, había una importante superposición de valores entre los grupos ⁽⁶⁹⁾.

En 17 pacientes con IAM se extrajeron muestras a las 4, 8, 12, 24, 48, 72 horas y 7 días tras el inicio de los síntomas para analizar miR-1 y miR-126. Se comparó con 25 controles sanos. Se detectó un aumento significativo de los niveles de miR-1 ya detectable a las 4 horas y con pico a las 8 horas, con AUC superiores a 0,90, así como una disminución de los niveles de miR-126 ⁽⁷⁵⁾.

En un estudio con 67 pacientes con IAM y 32 controles se analizó el valor diagnóstico de miR-1, miR-133a, miR-208b y miR-499 con respecto a la troponina T. Ninguno de ellos mostró mayor rentabilidad diagnóstica que la troponina ⁽⁷⁶⁾.

Comparando 56 pacientes con IAM con 28 controles, se observó un aumento significativo de los niveles de miR-1 a las 12 horas del inicio de los síntomas, volviendo a la normalidad a los 14 días. El análisis de las curvas ROC mostró que miR-1 es específico y sensible para el diagnóstico de IAM, pero no superior a la troponina T (AUC de 0,85 vs 0,95) ⁽⁷⁷⁾.

En 49 pacientes con IAM se encontró una correlación inversa entre los niveles de miR-1 y la fracción de eyección del ventrículo izquierdo ⁽⁹¹⁾.

En una muestra con 33 pacientes con IAMCEST y angioplastia primaria se obtuvieron muestras para análisis de miRNA. La primera muestra se obtuvo tras 517 + 309 minutos del inicio de los síntomas. Se observó que los niveles de miR-1, miR-133a, miR-133b y miR-499-5p fueron de 15 a 140 veces superiores a la media, volviendo a niveles basales a los 5 días. Se observó que los niveles

de miR-1, miR-133a y miR-133b se elevaban más precozmente que los de miR-499-5p ⁽⁷⁸⁾.

En un estudio con 117 pacientes con IAM, 182 con angina de pecho y 100 controles sanos se observó una elevación significativa de miR-1, miR-134, miR-186, miR-208, miR-223 y miR-499 en los pacientes con infarto. Además, miR-208 y miR-499 estaban elevados en los pacientes con angina de pecho, incluso más que los pacientes con infarto ⁽⁷⁰⁾.

En 322 pacientes con sospecha de SCA (106 con diagnóstico final) se determinaron miR-1, miR-21, miR-146a, miR-208a y miR-499. Todos estaban significativamente elevados en el grupo con SCA. Además, la combinación de miR-1, miR-21 y miR-499 tuvo mayor rendimiento diagnóstico de síndrome coronario agudo que la troponina T ultrasensible ⁽⁷¹⁾.

Por otro lado, se han publicado varios estudios que intentan valorar los mecanismos implicados en la liberación de miR-1 y su significado.

De esta forma, se ha observado en ratas que el aumento de la expresión de miR-1 puede estimularse por estímulos beta-adrenérgicos, y que propranolol puede reducir su expresión durante la isquemia miocárdica ⁽⁹²⁾. Además, se ha observado en ratas que espironolactona incrementa la expresión de miR-1 tras IAM, pudiendo contribuir a la supresión de la expresión de los canales activados por la hiperpolarización y los nucleótidos cíclicos, implicados en la génesis de arritmias ⁽⁹³⁾.

En otro estudio se observó en 24 autopsias de pacientes con IAM que el miR-1 se encontraba sobreexpresado en tejido miocárdico remoto frente al tejido infartado o a tejidos sanos procedentes de pacientes controles ⁽⁹⁴⁾.

Se ha visto también que la inyección intramiocárdica de células madre mesenquimales en ratas a las que se ha inducido un IAM es más efectiva si estas células han sido modificadas para que sobreexpresen miR-1 ⁽⁹⁵⁾.

Por tanto, en nuestro estudio encontramos una liberación de miR-1 durante la fase aguda del infarto agudo de miocardio concordante con lo ya publicado. No se observó relación con el desarrollo de remodelado.

miR-21

También detectamos en nuestra muestra una curva estadísticamente significativa en los niveles de miR-21 (tabla 11). En este caso, si bien se observó un aumento ya a las 3 horas, el pico se produjo a las 12 horas de la apertura del vaso (figuras 16 y 17). No hubo diferencias significativas con respecto a los controles ni tampoco entre los pacientes que desarrollaron remodelado y los que no (figura 18).

El aumento de miR-21 también está descrito en estudios previos.

En un estudio con pacientes con IAM, ictus, embolismo pulmonar y controles sanos se detectó que miR-21 y miR-361-5p aumentaban en las tres entidades, así como que miR-519e-5p descendía sólo en el infarto, aumentado en el ictus y el embolismo pulmonar ⁽⁹⁶⁾.

Como se expuso anteriormente, en 322 pacientes con sospecha de SCA miR-21 estaba significativamente elevado en el grupo con diagnóstico final de SCA ⁽⁷¹⁾.

Además, se ha estudiado en diversos estudios el papel de este microRNA en el IAM.

En 2009 se observó que en corazones murinos a los que se inducía un infarto había una reducción de la expresión de miR-21 en la zona infartada y un aumento en los bordes; esta reducción de la expresión se reducía al realizar preconditionamiento isquémico; además, la administración de adenovirus con miR-21 reducía el tamaño del infarto ⁽⁹⁷⁾. También se ha observado que

aumentaban los niveles de miR-21 en tejido cardíaco murino tras isquemia-reperfusión, regulando la expresión de la MMP-2 (metaloproteinasa de matriz - 2) ⁽⁹⁸⁾. Asimismo, se observó que miR-21 protegía contra el daño a los cardiomiocitos inducido por peróxido de hidrógeno ⁽⁹⁹⁾. Por otro lado, durante la isquemia-reperfusión se ha observado que el aumento de miR-21 tiene un papel antiapoptótico ⁽¹⁰⁰⁾, de tal forma que su estimulación mediante sulfuro de sodio durante la isquemia-reperfusión da lugar a menor inflamación, apoptosis, necrosis y tamaño del infarto, que no se producía cuando también se administraba anti-miR-21 ⁽¹⁰¹⁾. En ratas sometidas a infarto anterior se observó que la administración de lentivirus que expresaban miR-21 reducía el contenido de colágeno I, fibronectina, el número de células apoptóticas y el tamaño final del infarto en un 36,9 % ⁽¹⁰²⁾. La administración de Trimetazidina parece reducir la apoptosis en un modelo de isquemia-reperfusión mediante la inducción de miR-21 ⁽¹⁰³⁾.

Se ha observado que la supresión mediante anti-miR-21 reduce la fibrosis auricular y la incidencia de fibrilación auricular en ratas tras infarto agudo de miocardio ⁽¹⁰⁴⁾.

En resumen, en nuestro estudio encontramos un aumento de miR-21 durante el IAM concordante con lo ya publicado. A pesar de que está descrito un papel protector durante la fase aguda, no se observaron diferencias entre los pacientes que desarrollaron remodelado y los que no.

miR-29a y miR-29b

En nuestro estudio se observó un ligero aumento progresivo de los niveles de miR-29a en las posteriores horas al infarto de miocardio, que sin embargo no fue significativo (figuras 19, 20, 22 y 23; tablas 13 y 15).

Los niveles de miR-29b en los pacientes fueron menores que en los controles, de forma significativa a las 3 horas. Sin embargo, los valores no mostraron variaciones durante el período de observación.

Si bien no observamos diferencias en los niveles de miR-29a en función del desarrollo de remodelado (figura 21), los niveles de miR-29b tendieron a ser menores en los pacientes que desarrollaron remodelado, acercándose a la significación estadística (figura 24).

En un estudio previo que estudió la liberación de microRNAs en 12 pacientes con IAM frente a 12 controles sanos se encontró un incremento del miR-29a a los 5 días del IAM, que se mantenía posteriormente ⁽¹⁰⁵⁾.

Asimismo, en otro estudio se observó que miR-29 se encontraba inhibido en la zona adyacente al infarto. Como miR-29 inhibe el RNAm de proteínas implicadas en la fibrosis (colágeno, fibrilinas, elastina), su inhibición ha mostrado reducir la expresión de colágeno y aumentar la fibrosis ⁽¹⁰⁶⁾. Por otro lado, se ha observado en ratas que la administración de Carvedilol se asoció con un aumento de la expresión en fibroblastos de miR-29b, pudiendo contribuir a la reducción de la fibrosis tras un IAM ⁽¹⁰⁷⁾.

Por tanto, en nuestro estudio no se observó aumento significativo de los niveles de miR-29a en la fase aguda del infarto. Sí se detectaron valores bajos de miR-29b con respecto a los controles, sin desarrollo de curva. No se ha descrito su papel en fases tan precoces; no obstante, de acuerdo con lo publicado, estos microRNAs podrían desarrollar un papel protector en fases posteriores inhibiendo la fibrosis e influyendo en el remodelado, por lo que aunque las diferencias detectadas en nuestro estudio en los niveles de miR-29b con respecto al desarrollo de remodelado no son significativas sí creemos que merecerían ser confirmadas en un estudio más amplio.

miR-125

No observamos variaciones significativas en los niveles de miR-125a-3p, ni diferencias con respecto a los controles, ni predijeron el desarrollo de remodelado (figuras 25, 26 y 27; tabla 17).

Poco hay publicado sobre este microRNA. En un estudio se observó mediante la administración a ratas de lentivirus con miR-125 que se reducía el daño tras isquemia-reperfusión inhibiendo la apoptosis, la actividad de las caspasas 3/7 y 8 y el tamaño final del infarto ⁽¹⁰⁸⁾.

miR-133a y miR-133b

Tanto los niveles de miR-133a como los de miR-133b en nuestro estudio mostraron una curva claramente significativa, con valores pico ya a las 3 horas y que se mantenían estables a las 12 horas, descendiendo posteriormente. También las diferencias entre los valores a las 3 y 12 horas y los controles fueron muy significativas en ambos casos (figuras 28, 29, 31 y 32; tabla 19).

Al analizar su correlación con el desarrollo de remodelado, hubo una tendencia no significativa a que los pacientes que remodelaron tuvieran valores mayores de miR-133a en fase aguda (figuras 30 y 33)

En los estudios previamente publicados, ambos son marcadores de conocido valor diagnóstico en el IAM, habiéndose estudiado también su valor pronóstico.

Así, en un estudio se midieron los niveles de miR-133a al ingreso en 216 pacientes sometidos a angioplastia primaria por IAMCEST de menos de 12 horas de evolución. Se observó una correlación entre los niveles de miR-133a y los marcadores en RNM (tamaño del infarto, obstrucción microvascular). Los eventos cardiovasculares (muerte, reinfarto e insuficiencia cardíaca) fueron más frecuentes a los 6 meses en los pacientes con valores de miR-133a por encima de la mediana ⁽⁷⁹⁾.

En otro estudio con 246 pacientes con un infarto anterior, la determinación seriada durante un año de miR-133a no se correlacionó con los índices de función y remodelado ventricular ni con los niveles de NT-pro-BNP ⁽¹⁰⁹⁾.

En un estudio con 77 pacientes con IAMCEST, 21 pacientes con IAMSEST y 23 controles sanos, se observó una elevación de miR-133a, miR-133b y miR-499-5p en pacientes con infarto con y sin elevación del ST con respecto a los controles. Los valores estaban ya elevados a las 4 horas ⁽⁸⁰⁾.

Se observó en un estudio con 13 pacientes con IAM, 127 pacientes con angina de pecho y 127 controles sanos que los niveles de miR-133a se elevaban en los pacientes con IAM, pero también en los pacientes con angina estable con respecto a los controles; además, había una correlación entre sus niveles y la severidad de la enfermedad coronaria ⁽¹¹⁰⁾.

En un estudio con 1155 pacientes que consultaron por dolor torácico se determinaron los valores de seis microRNAs: miR-133a, miR-208b, miR-223, miR-320a, miR-451 y miR-499. 224 pacientes tuvieron un diagnóstico final de IAM. En ellos se observaron valores elevados de miR-208b, miR-499 y miR-320a. La mayor eficacia diagnóstica se observó con el miR-208b (AUC: 0,76). Sin embargo, ninguno mejoró el valor diagnóstico de la troponina T ultrasensible. Los pacientes que fallecieron tenían mayor valor de miR-208, pero con escaso valor predictivo ⁽⁷²⁾.

También se ha estudiado el valor de miR-133a y miR-133b en otros estudios ya citados ⁽⁷⁶⁾. Destacar que miR-133a y miR-133b se elevaron más precozmente que miR-499-5p ⁽⁷⁸⁾ y que miR-133a se ha correlacionado con la mortalidad, si bien perdiendo este valor pronóstico al ajustarlo por la troponina ⁽⁹⁹⁾.

En cuanto a posibles mecanismos de acción, se ha observado que la sobreexpresión de miR-133 protege a los cardiomiocitos de la apoptosis al reducir la expresión de las caspasas 9 y 3 en presencia de peróxido de hidrógeno. Se ha observado que los niveles de miR-133 aumentan bajo tratamiento con Carvedilol ⁽¹¹¹⁾.

En resumen, nuestros datos, que muestran una elevación durante la fase aguda del infarto de ambos microRNAs, son plenamente concordantes con lo publicado. La tendencia que hemos encontrado a unos mayores valores de miR-133a en los pacientes que desarrollaron remodelado podría ser real, si bien aunque está descrito un posible papel protector de este microRNA, probablemente sea más reflejo de su relación con el tamaño del infarto, y no de su papel fisiológico.

miR-193b

En nuestra muestra observamos una curva con diferencias estadísticamente significativas en los niveles de miR-193b, con un pico ya a las 3 horas, máximo a las 12 horas y descenso ya a las 24 horas (figuras 34 y 35).

También hubo diferencias entre los valores a las 3 y 12 horas y los valores en los controles.

No se observó relación con el desarrollo de remodelado (figura 36).

No hemos encontrado ningún estudio previo en el que se haya detectado esta elevación en el contexto del infarto agudo de miocardio. Sí existe un reciente artículo en el que se observa que existen niveles elevados de miR-193-5p en 8 pacientes con miocardiopatía hipertrófica frente a 4 controles sanos ⁽¹¹²⁾ y un estudio experimental en el que se observó una regulación al alza a las 24 horas de reperusión tras 2 horas de isquemia en vasos de colgajos epigástricos de rata ⁽¹¹³⁾.

Por tanto, sería el primer estudio en que se describe la liberación de miR-193b durante el infarto agudo de miocardio.

miR-200b

No obtuvimos valores con un curva clara de liberación en los niveles de miR-200b (figuras 37 y 38). Si bien se observó una significación estadística límite ($p=0,05$), los valores en diferentes puntos fueron variables, por lo que no nos permiten afirmar que este microRNA tenga una liberación en el IAM. Tampoco esta liberación está descrita previamente en la literatura.

No hubo diferencias con respecto a los controles y tampoco se correlacionó con el desarrollo de remodelado (figura 39).

miR-208

En nuestro estudio no encontramos variaciones en los niveles de miR-208 en las muestras de los pacientes, ni diferencias con respecto a los controles, ni correlación con el desarrollo de remodelado (figuras 40, 41 y 42; tabla 24), lo cual contrasta claramente con los estudios publicados en los que se ha estudiado el papel y valor diagnóstico de mir-208a y mir-208b en el infarto.

Así, en un trabajo se estudiaron pacientes con IAM, miocarditis vírica, insuficiencia cardíaca aguda y disfunción diastólica. Se observó con respecto a los controles un aumento marcado de los niveles de miR-499 y miR-208b; este aumento se observó también, aunque de forma ligera, en pacientes con miocarditis. En los pacientes con insuficiencia cardíaca aguda sólo se elevó ligeramente miR-499 ⁽⁶⁸⁾.

En un estudio con 87 pacientes con IAM (con y sin elevación del ST) y 87 voluntarios sanos, se observó un aumento de los niveles de miR-208b y un descenso de miR-26a y miR-191. Se analizó el valor diagnóstico de los niveles de miR-26 (AUC: 0,745; S: 73,6 %, E: 72,4 %), miR-191 (AUC: 0,669, S: 61 %, E: 69 %) y mir-208b (AUC: 0,674, S: 59,8 %, E: 73,6 %). Este último presentó el mejor rendimiento en IAMSEST ⁽⁷³⁾.

Hemos comentado anteriormente varios estudios en los que se estudia el valor diagnóstico de mir-208. En un estudio que incluyó 444 pacientes con síndrome coronario agudo se obtuvieron muestras al ingreso observándose una correlación entre los niveles de troponina T ultrasensible y los valores de miR-1, miR-133a, miR-133b y miR-208b. Si bien había mayores niveles de miR-1,

miR-133a y miR-208b en los pacientes con IAM frente a los que presentaban angina inestable, había una importante superposición de valores entre los grupos. Como en el caso de miR-133a, los niveles de miR-208b se correlacionaron con la mortalidad, si bien perdieron este valor pronóstico al ajustarlo por la troponina ⁽⁶⁹⁾. En un estudio con 117 pacientes con IAM, 182 con angina de pecho y 100 controles sanos, se observó una elevación significativa de miR-1, miR-134, miR-186, miR-208, miR-223 y miR-499 en los pacientes con infarto. Además, miR-208 y miR-499 estaban elevados en los pacientes con angina de pecho, incluso más que los pacientes con infarto ⁽⁷⁰⁾. En 322 pacientes con sospecha de SCA (106 con diagnóstico final) se determinaron miR-1, miR-21, miR-146a, miR-208a y miR-499. Todos estaban significativamente elevados en el grupo con SCA ⁽⁷¹⁾. En un estudio con 1155 pacientes que consultaron por dolor torácico se determinaron los valores de seis microRNAs: miR-133a, miR-208b, miR-223, miR-320a, miR-451 y miR-499. 224 pacientes tuvieron un diagnóstico final de IAM. La mayor eficacia diagnóstica se observó con el miR-208b (AUC: 0,76). Sin embargo, ninguno mejoró el valor diagnóstico de la troponina T ultrasensible. Los pacientes que fallecieron tenían mayor valor de miR-208, pero con escaso valor predictivo ⁽⁷²⁾.

Se ha comprobado tras analizar muestras de 359 pacientes con IAM que los niveles de mir-208b y mir-34a al ingreso eran mayores en pacientes que presentaban remodelado en el seguimiento, definido como un aumento de al menos el 10 % en el volumen telediastólico del VI a los 6 meses con respecto al nivel basal ⁽⁸⁶⁾.

En resumen, el valor de miR-208 está claramente definido en el infarto agudo de miocardio, si bien en nuestro estudio no hemos podido observar este efecto, sin que podamos determinar la causa.

miR-320

Encontramos en nuestro estudio una curva en los niveles de miR-320 estadísticamente significativa, con un pico manifiesto a las 12 horas (figuras 43 y 44, tabla 26). También los niveles a las 12 horas fueron mayores de forma significativa con respecto a los controles.

Además, la liberación de este miR-320 fue superior de forma significativa en los pacientes que desarrollaron remodelado frente a los que no lo hicieron (figura 45).

En el mencionado estudio con 1155 pacientes que consultaron por dolor torácico, en los 224 pacientes que tuvieron un diagnóstico final de IAM, se observaron valores elevados de miR-320a ⁽⁷²⁾.

En un estudio de isquemia-reperfusión en ratas se encontraron niveles elevados de miR-320, detectándose además que el tratamiento con antagomiR-320 mejoraba los parámetros de remodelado en el seguimiento, presentando asimismo menor grado de fibrosis y apoptosis ⁽¹¹⁴⁾. Previamente también se había observado en otro estudio con un modelo murino que la sobreexpresión de miR-320 en isquemia-reperfusión se asociaba a mayor apoptosis y tamaño del infarto, mientras que el tratamiento con antagomiR-320 daba lugar a menor tamaño del infarto ⁽¹¹⁵⁾.

No se había detectado este efecto en estudios en humanos.

En resumen, hemos detectado una liberación de miR-320 en el infarto agudo de miocardio, previamente descrita. Si bien la relación de miR-320 con un mayor tamaño del infarto y el papel beneficioso de su inhibición en la reducción

del tamaño del infarto y el menor desarrollo de remodelado se ha descrito en modelos animales de isquemia-reperfusión, no hemos encontrado estudios en que se haya descrito este efecto en humanos, como en el nuestro.

miR-324-3p.

No detectamos curva significativa en los niveles de este microRNA, ni diferencias con los controles ni influencia en el desarrollo de remodelado (figuras 46, 47 y 48; tabla 28).

Tampoco hay ningún estudio sobre su relación con el IAM.

miR-339-3p

Tampoco detectamos una curva significativa en este caso, si bien los valores fueron mayores en todos los puntos con respecto a los controles, significativamente a las 3 horas (figuras 49 y 50).

No hubo diferencias con respecto al desarrollo de remodelado (figura 51).

No hay nada descrito al respecto en la literatura, por lo que estos resultados deberían confirmarse en estudios más amplios.

miR-339-5p

Observamos una curva de liberación significativa de miR-339-5p, con niveles mayores ya a las 3 horas, pero que continuaba aumentando con un máximo a las 24 horas (figuras 52 y 53; tabla 31).

No hubo diferencias con los controles a las 3 y 12 horas, aunque en este último caso cercano a la significación estadística.

No se encontraron diferencias con respecto al desarrollo de remodelado (figura 54).

No hay descritos datos de liberación de miR-339-5p en el infarto agudo de miocardio. Sin embargo, dos estudios han encontrado relación con isquemia miocárdica y cerebral, sugiriendo que nuestros hallazgos no son casuales.

En muestras procedentes de tejido de ventrículo izquierdo de pacientes sometidos a cirugía de revascularización coronaria, tomadas antes y después de clampar la aorta, se observó un aumento de los niveles de miR-339-5p ⁽¹¹⁶⁾. Por otro lado, se ha observado experimentalmente que en modelos de ictus cerebral, hay un aumento de miR-339-5p en relación con los episodios de isquemia ⁽¹¹⁷⁾.

Por tanto, sería el primer estudio en que se describiría la liberación de miR-339-5p en el infarto agudo de miocardio, con datos en la literatura que sugieren que este hallazgo no es espurio.

miR-423-5p

En nuestra muestra también encontramos una curva estadísticamente significativa en la liberación de miR-423-5p, con valores pico a las 12 horas de la apertura del vaso (figuras 55 y 56; tabla 33).

En este punto (12 horas), las diferencias fueron significativas con respecto a los controles.

Los valores de miR-423-5p no se relacionaron con el desarrollo de remodelado (figura 57).

Este marcador ha sido descrito previamente como marcador de insuficiencia cardíaca ⁽¹¹⁸⁻¹²¹⁾. Se ha estudiado también su liberación en el infarto agudo de miocardio y su capacidad para predecir remodelado. Sin embargo, en un estudio previamente mencionado con 246 pacientes con un infarto anterior, la determinación seriada durante un año de miR-133a y miR-423-5p no se correlacionó con los índices de función y remodelado ventricular ni con los niveles de NT-pro-BNP, si bien estos niveles no se determinaron en fase aguda sino al mes, 3 y 12 meses ⁽¹⁰⁹⁾.

En definitiva, creemos que el aumento de este microRNA en nuestro estudio se corresponde con los cambios hemodinámicos que ocurren en el infarto agudo de miocardio de localización anterior, con el desarrollo de insuficiencia cardíaca aguda en mayor o menor medida.

miR-484

No observamos diferencias significativas entre las diferentes muestras obtenidas tras el infarto en los niveles de miR-484, ni diferencias con respecto a los controles ni relación con el desarrollo de remodelado (figuras 58, 59 y 60; tabla 35).

Tampoco hemos encontrado ninguna publicación que relacione este microRNA con el IAM.

miR-499-5p

En nuestro estudio observamos que miR-499-5p fue el microRNA que presentó una curva con mayor variación, menor dispersión y mayor significación estadística, siendo detectable ya a las 3 horas pero con pico a las 12 horas, concordando con los múltiples estudios en los que se ha utilizado su utilidad como marcador en el IAM (figuras 61 y 62, tabla 37).

Hubo también diferencias muy significativas con respecto a los controles, pero no se detectó relación con el remodelado (figura 63).

Hemos descrito previamente varios estudios en los que se ha confirmado la elevación de miR-499 en el IAM ^(68, 78, 80, 72), si bien sin superar el valor diagnóstico y pronóstico de la troponina ^{(76) (69)}. Sin embargo, miR-499 se eleva también en pacientes con angina inestable, si bien en menor cuantía ^{(70), (81)}.

En cuanto al posible papel que juega en el infarto, se ha observado que los niveles elevados de miR-499 en ratas neonatas protegerían frente a la apoptosis mediada por peróxido de hidrógeno ⁽¹²²⁾.

En definitiva, el comportamiento de miR-499 en nuestro estudio es concordante con los estudios publicados previamente.

miR-519, miR-522 y miR-545

En los tres casos los niveles en los pacientes con infarto fueron menores que en los controles, de forma significativa en el caso de miR-522 y miR-545, si bien sin variaciones entre los diferentes puntos en cada paciente (figuras 64, 65, 67, 68, 70 y 71; tabla 39).

No hubo diferencias con respecto al desarrollo de remodelado (figuras 66, 69 y 72).

Apenas hay estudios sobre estos microRNAs en enfermedades cardiovasculares. Como hemos descrito previamente, en un estudio con pacientes con IAM, ictus, embolismo pulmonar y controles sanos se detectó que miR-21 y miR-361-5p aumentaban en las tres entidades, mientras que miR-519e-5p descendía sólo en el infarto, aumentando en el ictus y el embolismo pulmonar ⁽⁹⁶⁾. En otro estudio en pacientes con insuficiencia cardíaca, se observaron que los niveles de miR-519-5p se expresaban de forma diferencial entre los pacientes con insuficiencia cardíaca con función sistólica normal y los controles ⁽¹²³⁾.

Queda, por tanto, por aclarar la significación de nuestros resultados con estos microRNAs.

7. CONCLUSIONES

1. En nuestro estudio encontramos niveles aumentados en el infarto agudo de miocardio de varios microRNAs ya descritos en la literatura: miR-1, miR-21, miR-133a, miR-133b, miR-320, miR-423-5p y miR-499.

2. Encontramos dos microRNAs cuyos niveles se incrementaron significativamente durante el infarto agudo de miocardio y que no habían sido descritos previamente: miR-193b y miR-339-5p.

3. Observamos asimismo diferencias estadísticamente significativas con respecto a los controles, aunque sin desarrollo de curva evolutiva en varios microRNAs. Los niveles de miR-339-3p eran mayores, mientras que los de miR-29b, miR-522 y miR-545 eran menores.

4. Detectamos valores significativamente mayores de miR-320 en los pacientes que desarrollaron remodelado ventricular a los 6 meses. Asimismo, detectamos niveles menores de miR-29b en los pacientes que desarrollaron remodelado, sin llegar a alcanzar la significación estadística.

5. En los microRNAs que se elevaron tras el IAM, el pico se produjo 12 horas tras la apertura del vaso, si bien con valores ya elevados a las 3 horas.

6. Los microRNAs tienen un prometedor papel en el contexto del infarto agudo de miocardio por su posible valor diagnóstico y, sobre todo, como posibles dianas terapéuticas que permitan reducir el tamaño del infarto y la progresión a remodelado ventricular e insuficiencia cardíaca.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Ministerio de Sanidad P Sel. Estrategia en Cardiopatía Isquémica del Sistema Nacional de Salud. Actualización aprobada por el Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud el 22 de octubre de 2009.2011.
2. Malouf JE, WD; Takik,AJ; Seward, JB. Anatomía funcional del corazón. Hurst El corazón. 1. 10ª edición. ed: Mc-Graw-Hill - INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S.A.U. p. 48-54.
3. Yadav M, Palmerini T, Caixeta A, Madhavan MV, Sanidas E, Kirtane AJ, et al. Prediction of coronary risk by SYNTAX and derived scores: synergy between percutaneous coronary intervention with taxus and cardiac surgery. Journal of the American College of Cardiology. 2013;62(14):1219-30.
4. De León GA-B, S. Recomendaciones sobre las maniobras de provocación de isquemia, protocolos de adquisición, interpretación de las imágenes y elaboración de los informes. Revista Española de Cardiología. 2008;8:2B-14B.
5. Otsuka F, Kolodgie F, Virmani R. The role of the vulnerable plaque in acute coronary syndromes. In: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Accessed on January 04, 2016.)
6. Antman E. Infarto de miocardio con elevación del ST: anatomía patológica, fisiopatología y manifestaciones clínicas. In: Elsevier España S, editor. Braunwald Tratado de Cardiología. 7ª Edición. 2012. p. 1141-1166.
7. Patología cardiovascular 2013 [cited 2016]. Available from: <http://histopatologiabasica.blogspot.com.es/2013/05/patologia-cardiovascular.html>.
8. Laflamme MA, Murry CE. Regenerating the heart. Nature biotechnology. 2005;23(7):845-56.

9. Schomig A, Ndrepepa G, Kastrati A. Late myocardial salvage: time to recognize its reality in the reperfusion therapy of acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2006;27(16):1900-7.
10. Eapen ZJ, Tang WH, Felker GM, Hernandez AF, Mahaffey KW, Lincoff AM, et al. Defining heart failure end points in ST-segment elevation myocardial infarction trials: integrating past experiences to chart a path forward. *Circulation Cardiovascular quality and outcomes*. 2012;5(4):594-600.
11. Callender T, Woodward M, Roth G, Farzadfar F, Lemarie JC, Gicquel S, et al. Heart failure care in low- and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. *PLoS medicine*. 2014;11(8):e1001699.
12. Antman E. Infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST: tratamiento. In: Elsevier España S, editor. *Braunwald Tratado de Cardiología*. 7ª Edición. 2012. p. 1130-40.
13. Windecker S, Kolh P, Alfonso F, Collet JP, Cremer J, Falk V, et al. 2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) Developed with the special contribution of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI). *Eur Heart J*. 2014 Oct 1;35(37):2541-619.
14. Effectiveness of intravenous thrombolytic treatment in acute myocardial infarction. Gruppo Italiano per lo Studio della Streptochinasi nell'Infarto Miocardico (GISSI). *Lancet*. 1986;1(8478):397-402.
15. The Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) trial. Phase I findings. TIMI Study Group. *N Eng J Med* 1985;312(14):932-6.

16. Frobert O, Lagerqvist B, Olivecrona GK, Omerovic E, Gudnason T, Maeng M, et al. Thrombus aspiration during ST-segment elevation myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2013;369(17):1587-97.
17. Pinto DS, Gibson GM. Reperfusion injury of the heart. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Accessed on January 04, 2016)
18. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial Reperfusion Injury. *N Engl J Med*. 2007;357(11):1121-35.
19. Ong SB, Samangouei P, Kalkhoran SB, Hausenloy DJ. The mitochondrial permeability transition pore and its role in myocardial ischemia reperfusion injury. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2015;78c:23-34.
20. Cung T-T, Morel O, Cayla G, Rioufol G, Garcia-Dorado D, Angoulvant D, et al. Cyclosporine before PCI in Patients with Acute Myocardial Infarction. *N Engl J Med*. 2015 Sep 10;373(11):1021-31
21. Garcia-Dorado D, Garcia-del-Blanco B, Otaegui I, Rodriguez-Palomares J, Pineda V, Gimeno F, et al. Intracoronary injection of adenosine before reperfusion in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: a randomized controlled clinical trial. *International Journal of Cardiology*. 2014;177(3):935-41.
22. Ross AM, Gibbons RJ, Stone GW, Kloner RA, Alexander RW. A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial of adenosine as an adjunct to reperfusion in the treatment of acute myocardial infarction (AMISTAD-II). *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;45(11):1775-80.

23. Kloner RA, Forman MB, Gibbons RJ, Ross AM, Alexander RW, Stone GW. Impact of time to therapy and reperfusion modality on the efficacy of adenosine in acute myocardial infarction: the AMISTAD-2 trial. *European Heart Journal*. 2006;27(20):2400-5.
24. Niccoli G, Rigattieri S, De Vita MR, Valgimigli M, Corvo P, Fabbicchi F, et al. Open-label, randomized, placebo-controlled evaluation of intracoronary adenosine or nitroprusside after thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention for the prevention of microvascular obstruction in acute myocardial infarction: the REOPEN-AMI study (Intracoronary Nitroprusside Versus Adenosine in Acute Myocardial Infarction). *JACC Cardiovascular interventions*. 2013;6(6):580-9.
25. Niccoli G, Spaziani C, Crea F. Left ventricular remodeling and 1-year clinical follow-up of the REOPEN-AMI trial. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014;63(14):1454-5.
26. Hahn JY, Song YB, Kim EK, Yu CW, Bae JW, Chung WY, et al. Ischemic postconditioning during primary percutaneous coronary intervention: the effects of postconditioning on myocardial reperfusion in patients with ST-segment elevation myocardial infarction (POST) randomized trial. *Circulation*. 2013;128(17):1889-96.
27. Kim EK, Hahn JY, Song YB, Lee SC, Choi JH, Choi SH, et al. Effect of ischemic postconditioning on myocardial salvage in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction: cardiac magnetic resonance substudy of the POST randomized trial. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2015 Mar;31(3):629-37

28. Crimi G, Pica S, Raineri C, Bramucci E, De Ferrari GM, Klersy C, et al. Remote ischemic post-conditioning of the lower limb during primary percutaneous coronary intervention safely reduces enzymatic infarct size in anterior myocardial infarction: a randomized controlled trial. *JACC Cardiovascular interventions*. 2013;6(10):1055-63.
29. Sloth AD, Schmidt MR, Munk K, Kharbanda RK, Redington AN, Schmidt M, et al. Improved long-term clinical outcomes in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing remote ischaemic conditioning as an adjunct to primary percutaneous coronary intervention. *European Heart Journal*. 2014;35(3):168-75.
30. White SK, Frohlich GM, Sado DM, Maestrini V, Fontana M, Treibel TA, et al. Remote ischemic conditioning reduces myocardial infarct size and edema in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *JACC Cardiovascular Interventions*. 2015;8(1 Pt B):178-88.
31. Ibanez B, Macaya C, Sanchez-Brunete V, Pizarro G, Fernandez-Friera L, Mateos A, et al. Effect of early metoprolol on infarct size in ST-segment-elevation myocardial infarction patients undergoing primary percutaneous coronary intervention: the Effect of Metoprolol in Cardioprotection During an Acute Myocardial Infarction (METOCARD-CNIC) trial. *Circulation*. 2013;128(14):1495-503.
32. Pizarro G, Fernandez-Friera L, Fuster V, Fernandez-Jimenez R, Garcia-Ruiz JM, Garcia-Alvarez A, et al. Long-term benefit of early pre-reperfusion metoprolol administration in patients with acute myocardial infarction: results from the METOCARD-CNIC trial (Effect of Metoprolol in Cardioprotection During an

Acute Myocardial Infarction). *Journal of the American College of Cardiology*. 2014;63(22):2356-62.

33. Wu M, Huang Z, Xie H, Zhou Z. Nicorandil in patients with acute myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*. 2013;8(10):e78231.

34. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *Journal of the American College of Cardiology*. 2000;35(3):569-82.

35. Cohn J. Cardiac remodeling: Basic aspects En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Accessed on January 04, 2016)

36. Gaudron P, Eilles C, Kugler I, Ertl G. Progressive left ventricular dysfunction and remodeling after myocardial infarction. Potential mechanisms and early predictors. *Circulation*. 1993;87(3):755-63.

37. Seropian IM, Toldo S, Van Tassell BW, Abbate A. Anti-inflammatory strategies for ventricular remodeling following ST-segment elevation acute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014;63(16):1593-603.

38. Sutton MG, Sharpe N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation*. 2000;101(25):2981-8.

39. Yan X, Anzai A, Katsumata Y, Matsushashi T, Ito K, Endo J, et al. Temporal dynamics of cardiac immune cell accumulation following acute myocardial infarction. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2013;62:24-35.

40. Mezzaroma E, Toldo S, Farkas D, Seropian IM, Van Tassell BW, Salloum FN, et al. The inflammasome promotes adverse cardiac remodeling following acute myocardial infarction in the mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(49):19725-30.
41. Abbate A, Biondi-Zoccai GG, Baldi A. Pathophysiologic role of myocardial apoptosis in post-infarction left ventricular remodeling. *Journal of cellular physiology*. 2002;193(2):145-53.
42. Rumberger JA, Behrenbeck T, Breen JR, Reed JE, Gersh BJ. Nonparallel changes in global left ventricular chamber volume and muscle mass during the first year after transmural myocardial infarction in humans. *Journal of the American College of Cardiology*. 1993;21(3):673-82.
43. Gajarsa JJ, Kloner RA. Left ventricular remodeling in the post-infarction heart: a review of cellular, molecular mechanisms, and therapeutic modalities. *Heart failure reviews*. 2011;16(1):13-21.
44. Yang J, Liu Y, Fan X, Li Z, Cheng Y. A pathway and network review on beta-adrenoceptor signaling and beta blockers in cardiac remodeling. *Heart failure reviews*. 2014;19(6):799-814.
45. White HD, Norris RM, Brown MA, Brandt PW, Whitlock RM, Wild CJ. Left ventricular end-systolic volume as the major determinant of survival after recovery from myocardial infarction. *Circulation*. 1987;76(1):44-51.
46. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the

European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *Journal of the American Society of Echocardiography* : official publication of the American Society of Echocardiography. 2005;18(12):1440-63.

47. Thomson HL, Basmadjian AJ, Rainbird AJ, Razavi M, Avierinos JF, Pellikka PA, et al. Contrast echocardiography improves the accuracy and reproducibility of left ventricular remodeling measurements: a prospective, randomly assigned, blinded study. *Journal of the American College of Cardiology*. 2001;38(3):867-75.

48. Giannuzzi P, Temporelli PL, Bosimini E, Gentile F, Lucci D, Maggioni AP, et al. Heterogeneity of left ventricular remodeling after acute myocardial infarction: results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico-3 Echo Substudy. *American Heart Journal*. 2001;141(1):131-8.

49. Perazzolo Marra M, Lima JAC, Iliceto S. MRI in acute myocardial infarction. *European Heart Journal* (2011) 32, 284–293.

50. Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA, Basta L, Brown EJ, Jr., Cuddy TE, et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. *The New England journal of medicine*. 1992;327(10):669-77.

51. Kober L, Torp-Pedersen C, Carlsen JE, Bagger H, Eliassen P, Lyngborg K, et al. A clinical trial of the angiotensin-converting-enzyme inhibitor trandolapril in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *Trandolapril*

Cardiac Evaluation (TRACE) Study Group. The New England journal of medicine. 1995;333(25):1670-6.

52. GISSI-3: effects of lisinopril and transdermal glyceryl trinitrate singly and together on 6-week mortality and ventricular function after acute myocardial infarction. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'infarto Miocardico. Lancet. 1994;343(8906):1115-22.

53. Cleland JG, Erhardt L, Murray G, Hall AS, Ball SG. Effect of ramipril on morbidity and mode of death among survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure. A report from the AIRE Study Investigators. European heart journal. 1997;18(1):41-51.

54. Latini R, Staszewsky L, Maggioni AP, Marino P, Hernandez-Bernal F, Tognoni G, et al. Beneficial effects of angiotensin-converting enzyme inhibitor and nitrate association on left ventricular remodeling in patients with large acute myocardial infarction: the Delapril Remodeling after Acute Myocardial Infarction (DRAM) trial. American heart journal. 2003;146(1):133.

55. Pfeffer MA, McMurray JJ, Velazquez EJ, Rouleau JL, Kober L, Maggioni AP, et al. Valsartan, captopril, or both in myocardial infarction complicated by heart failure, left ventricular dysfunction, or both. The New England journal of medicine. 2003;349(20):1893-906.

56. Steg PG, James SK, Atar D, Badano LP, Blomstrom-Lundqvist C, Borger MA, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. European heart journal. 2012;33(20):2569-619.

57. Pitt B, Remme W, Zannad F, Neaton J, Martinez F, Roniker B, et al. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *The New England journal of medicine*. 2003;348(14):1309-21.
58. Weir RA, Mark PB, Petrie CJ, Clements S, Steedman T, Ford I, et al. Left ventricular remodeling after acute myocardial infarction: does eplerenone have an effect? *American heart journal*. 2009;157(6):1088-96.
59. Dargie HJ. Effect of carvedilol on outcome after myocardial infarction in patients with left-ventricular dysfunction: the CAPRICORN randomised trial. *Lancet*. 2001;357(9266):1385-90.
60. Doughty RN, Whalley GA, Walsh HA, Gamble GD, Lopez-Sendon J, Sharpe N. Effects of carvedilol on left ventricular remodeling after acute myocardial infarction: the CAPRICORN Echo Substudy. *Circulation*. 2004;109(2):201-6.
61. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004;116(2):281-97.
62. Orenes-Pinero E, Montoro-Garcia S, Patel JV, Valdes M, Marin F, Lip GY. Role of microRNAs in cardiac remodelling: new insights and future perspectives. *International journal of cardiology*. 2013;167(5):1651-9.
63. Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic acids research*. 2011;39(16):7223-33.
64. Condorelli G, Latronico MV, Cavarretta E. microRNAs in cardiovascular diseases: current knowledge and the road ahead. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014;63(21):2177-87.

65. van Rooij E, Kauppinen S. Development of microRNA therapeutics is coming of age. *EMBO molecular medicine*. 2014;6(7):851-64.
66. Zhang Y, Wang Z, Gemeinhart RA. Progress in microRNA delivery. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. 2013;172(3):962-74.
67. Economou EK, Oikonomou E, Siasos G, Papageorgiou N, Tsalamandris S, Mourouzis K, et al. The role of microRNAs in coronary artery disease: From pathophysiology to diagnosis and treatment. *Atherosclerosis*. 2015;241(2):624-33.
68. Corsten MF, Dennert R, Jochems S, Kuznetsova T, Devaux Y, Hofstra L, et al. Circulating MicroRNA-208b and MicroRNA-499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease. *Circulation Cardiovascular genetics*. 2010;3(6):499-506.
69. Widera C, Gupta SK, Lorenzen JM, Bang C, Bauersachs J, Bethmann K, et al. Diagnostic and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2011;51(5):872-5.
70. Li C, Fang Z, Jiang T, Zhang Q, Liu C, Zhang C, et al. Serum microRNAs profile from genome-wide serves as a fingerprint for diagnosis of acute myocardial infarction and angina pectoris. *BMC medical genomics*. 2013;6:16.
71. Oerlemans MI, Mosterd A, Dekker MS, de Vrey EA, van Mil A, Pasterkamp G, et al. Early assessment of acute coronary syndromes in the emergency department: the potential diagnostic value of circulating microRNAs. *EMBO molecular medicine*. 2012;4(11):1176-85.

72. Devaux Y, Mueller M, Haaf P, Goretti E, Twerenbold R, Zangrando J, et al. Diagnostic and prognostic value of circulating microRNAs in patients with acute chest pain. *Journal of internal medicine*. 2013.
73. Li C, Chen X, Huang J, Sun Q, Wang L. Clinical impact of circulating miR-26a, miR-191, and miR-208b in plasma of patients with acute myocardial infarction. *European journal of medical research*. 2015;20:58.
74. Ai J, Zhang R, Li Y, Pu J, Lu Y, Jiao J, et al. Circulating microRNA-1 as a potential novel biomarker for acute myocardial infarction. *Biochemical and biophysical research communications*. 2010;391(1):73-7.
75. Long G, Wang F, Duan Q, Chen F, Yang S, Gong W, et al. Human circulating microRNA-1 and microRNA-126 as potential novel indicators for acute myocardial infarction. *International journal of biological sciences*. 2012;8(6):811-8.
76. Li YQ, Zhang MF, Wen HY, Hu CL, Liu R, Wei HY, et al. Comparing the diagnostic values of circulating microRNAs and cardiac troponin T in patients with acute myocardial infarction. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*. 2013;68(1):75-80.
77. Li LM, Cai WB, Ye Q, Liu JM, Li X, Liao XX. Comparison of plasma microRNA-1 and cardiac troponin T in early diagnosis of patients with acute myocardial infarction. *World journal of emergency medicine*. 2014;5(3):182-6.
78. D'Alessandra Y, Devanna P, Limana F, Straino S, Di Carlo A, Brambilla PG, et al. Circulating microRNAs are new and sensitive biomarkers of myocardial infarction. *European heart journal*. 2010;31(22):2765-73.
79. Eitel I, Adams V, Dieterich P, Fuernau G, de Waha S, Desch S, et al. Relation of circulating MicroRNA-133a concentrations with myocardial damage

and clinical prognosis in ST-elevation myocardial infarction. *American heart journal*. 2012;164(5):706-14.

80. Ji Q, Jiang Q, Yan W, Li X, Zhang Y, Meng P, et al. Expression of Circulating MicroRNAs in Patients with ST-segment Elevation Acute Myocardial Infarction. *Minerva Cardioangiol*. 2015 Oct;63(5):397-402.

81. Chen X, Zhang L, Su T, Li H, Huang Q, Wu D, et al. Kinetics of plasma microRNA-499 expression in acute myocardial infarction. *Journal of thoracic disease*. 2015;7(5):890-6.

82. Long G, Wang F, Duan Q, Yang S, Chen F, Gong W, et al. Circulating miR-30a, miR-195 and let-7b associated with acute myocardial infarction. *PloS one*. 2012;7(12):e50926.

83. Devaux Y, Vausort M, McCann GP, Kelly D, Collignon O, Ng LL, et al. A panel of 4 microRNAs facilitates the prediction of left ventricular contractility after acute myocardial infarction. *PloS one*. 2013;8(8):e70644.

84. Matsumoto S, Sakata Y, Suna S, Nakatani D, Usami M, Hara M, et al. Circulating p53-responsive microRNAs are predictive indicators of heart failure after acute myocardial infarction. *Circulation research*. 2013;113(3):322-6.

85. He F, Lv P, Zhao X, Wang X, Ma X, Meng W, et al. Predictive value of circulating miR-328 and miR-134 for acute myocardial infarction. *Molecular and cellular biochemistry*. 2014;394(1-2):137-44.

86. Lv P, Zhou M, He J, Meng W, Ma X, Dong S, et al. Circulating miR-208b and miR-34a are associated with left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *International journal of molecular sciences*. 2014;15(4):5774-88.

87. Devaux Y, Vausort M, McCann GP, Zangrando J, Kelly D, Razvi N, et al. MicroRNA-150: a novel marker of left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Circulation Cardiovascular genetics*. 2013;6(3):290-8.
88. Dong YM, Liu XX, Wei GQ, Da YN, Cha L, Ma CS. Prediction of long-term outcome after acute myocardial infarction using circulating miR-145. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2015;75(1):85-91.
89. Matsumoto S, Sakata Y, Nakatani D, Suna S, Mizuno H, Shimizu M, et al. A subset of circulating microRNAs are predictive for cardiac death after discharge for acute myocardial infarction. *Biochemical and biophysical research communications*. 2012;427(2):280-4.
90. ¿Qué son los micro-RNA? ¿Para qué sirven? ¿Qué potenciales beneficios podrían tener en el contexto asistencial? *Cardiocre*. doi: 10.1016/j.carcor.2015.02.002 ER
91. Zhang R, Niu H, Ban T, Xu L, Li Y, Wang N, et al. Elevated plasma microRNA-1 predicts heart failure after acute myocardial infarction. *International journal of cardiology*. 2013;166(1):259-60.
92. Lu Y, Zhang Y, Shan H, Pan Z, Li X, Li B, et al. MicroRNA-1 downregulation by propranolol in a rat model of myocardial infarction: a new mechanism for ischaemic cardioprotection. *Cardiovascular research*. 2009;84(3):434-41.
93. Yu HD, Xia S, Zha CQ, Deng SB, Du JL, She Q. Spironolactone Regulates HCN Protein Expression Through Micro-RNA-1 in Rats With Myocardial Infarction. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2015;65(6):587-92.

94. Bostjancic E, Zidar N, Stajner D, Glavac D. MicroRNA miR-1 is up-regulated in remote myocardium in patients with myocardial infarction. *Folia biologica*. 2010;56(1):27-31.
95. Huang F, Li ML, Fang ZF, Hu XQ, Liu QM, Liu ZJ, et al. Overexpression of MicroRNA-1 improves the efficacy of mesenchymal stem cell transplantation after myocardial infarction. *Cardiology*. 2013;125(1):18-30.
96. Wang F, Long G, Zhao C, Li H, Chaugai S, Wang Y, et al. Atherosclerosis-related circulating miRNAs as novel and sensitive predictors for acute myocardial infarction. *PloS one*. 2014;9(9):e105734.
97. Dong S, Cheng Y, Yang J, Li J, Liu X, Wang X, et al. MicroRNA expression signature and the role of microRNA-21 in the early phase of acute myocardial infarction. *The Journal of biological chemistry*. 2009;284(43):29514-25.
98. Roy S, Khanna S, Hussain SR, Biswas S, Azad A, Rink C, et al. MicroRNA expression in response to murine myocardial infarction: miR-21 regulates fibroblast metalloprotease-2 via phosphatase and tensin homologue. *Cardiovascular research*. 2009;82(1):21-9.
99. Cheng Y, Liu X, Zhang S, Lin Y, Yang J, Zhang C. MicroRNA-21 protects against the H₂O₂-induced injury on cardiac myocytes via its target gene PDCD4. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2009;47(1):5-14.
100. Yang Q, Yang K, Li A. microRNA-21 protects against ischemia-reperfusion and hypoxia-reperfusion-induced cardiocyte apoptosis via the phosphatase and tensin homolog/Akt-dependent mechanism. *Molecular medicine reports*. 2014;9(6):2213-20.

101. Toldo S, Das A, Mezzaroma E, Chau VQ, Marchetti C, Durrant D, et al. Induction of microRNA-21 with exogenous hydrogen sulfide attenuates myocardial ischemic and inflammatory injury in mice. *Circulation Cardiovascular genetics*. 2014;7(3):311-20.
102. Gu GL, Xu XL, Sun XT, Zhang J, Guo CF, Wang CS, et al. Cardioprotective Effect of MicroRNA-21 in Murine Myocardial Infarction. *Cardiovascular therapeutics*. 2015;33(3):109-17.
103. Yang Q, Yang K, Li AY. Trimetazidine protects against hypoxia-reperfusion-induced cardiomyocyte apoptosis by increasing microRNA-21 expression. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2015;8(4):3735-41.
104. Cardin S, Guasch E, Luo X, Naud P, Le Quang K, Shi Y, et al. Role for MicroRNA-21 in atrial profibrillatory fibrotic remodeling associated with experimental postinfarction heart failure. *Circulation Arrhythmia and electrophysiology*. 2012;5(5):1027-35.
105. 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 after myocardial infarction. *Circulation Cardiovascular genetics*. 2011;4(6):614-9.
106. van Rooij E, Sutherland LB, Thatcher JE, DiMaio JM, Naseem RH, Marshall WS, et al. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105(35):13027-32.

107. Zhu JN, Chen R, Fu YH, Lin QX, Huang S, Guo LL, et al. Smad3 inactivation and MiR-29b upregulation mediate the effect of carvedilol on attenuating the acute myocardium infarction-induced myocardial fibrosis in rat. *PloS one*. 2013;8(9):e75557.
108. Wang X, Ha T, Zou J, Ren D, Liu L, Zhang X, et al. MicroRNA-125b protects against myocardial ischaemia/reperfusion injury via targeting p53-mediated apoptotic signalling and TRAF6. *Cardiovascular research*. 2014;102(3):385-95.
109. Bauters C, Kumarswamy R, Holzmann A, Bretthauer J, Anker SD, Pinet F, et al. Circulating miR-133a and miR-423-5p fail as biomarkers for left ventricular remodeling after myocardial infarction. *International journal of cardiology*. 2013;168(3):1837-40.
110. Wang F, Long G, Zhao C, Li H, Chaugai S, Wang Y, et al. Plasma microRNA-133a is a new marker for both acute myocardial infarction and underlying coronary artery stenosis. *Journal of translational medicine*. 2013;11:222.
111. Xu C, Hu Y, Hou L, Ju J, Li X, Du N, et al. beta-Blocker carvedilol protects cardiomyocytes against oxidative stress-induced apoptosis by up-regulating miR-133 expression. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2014;75:111-21.
112. Fang L, Ellims AH, Moore XL, White DA, Taylor AJ, Chin-Dusting J, et al. Circulating microRNAs as biomarkers for diffuse myocardial fibrosis in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of translational medicine*. 2015;13:314.

113. Chang KP, Lee HC, Huang SH, Lee SS, Lai CS, Lin SD. MicroRNA signatures in ischemia-reperfusion injury. *Annals of plastic surgery*. 2012;69(6):668-71.
114. Song CL, Liu B, Diao HY, Shi YF, Li YX, Zhang JC, et al. The protective effect of microRNA-320 on left ventricular remodeling after myocardial ischemia-reperfusion injury in the rat model. *International journal of molecular sciences*. 2014;15(10):17442-56.
115. Ren XP, Wu J, Wang X, Sartor MA, Qian J, Jones K, et al. MicroRNA-320 is involved in the regulation of cardiac ischemia/reperfusion injury by targeting heat-shock protein 20. *Circulation*. 2009;119(17):2357-66.
116. Saddic LA, Chang TW, Sigurdsson MI, Heydarpour M, Raby B, Shernan SK, et al. Integrated MicroRNA and mRNA Responses to Acute Human Left Ventricular Ischemia. *Physiol Genomics*. 2015 Oct;47(10):455-62.
117. Dhiraj DK, Chrysanthou E, Mallucci GR, Bushell M. miRNAs-19b, -29b-2* and -339-5p show an early and sustained up-regulation in ischemic models of stroke. *PloS one*. 2013;8(12):e83717.
118. Goren Y, Kushnir M, Zafrir B, Tabak S, Lewis BS, Amir O. Serum levels of microRNAs in patients with heart failure. *European journal of heart failure*. 2012;14(2):147-54.
119. Tijssen AJ, Creemers EE, Moerland PD, de Windt LJ, van der Wal AC, Kok WE, et al. MiR423-5p As a Circulating Biomarker for Heart Failure. *Circulation research*. 2010;106(6):1035-9.

120. Fan KL, Zhang HF, Shen J, Zhang Q, Li XL. Circulating microRNAs levels in Chinese heart failure patients caused by dilated cardiomyopathy. *Indian heart journal*. 2013;65(1):12-6.
121. Goldraich LA, Martinelli NC, Matte U, Cohen C, Andrades M, Pimentel M, et al. Transcoronary gradient of plasma microRNA 423-5p in heart failure: evidence of altered myocardial expression. *Biomarkers* 2014;19(2):135-41.
122. Wang J, Jia Z, Zhang C, Sun M, Wang W, Chen P, et al. miR-499 protects cardiomyocytes from H₂O₂-induced apoptosis via its effects on Pdc4 and Pacs2. *RNA biology*. 2014;11(4):339-50.
123. Wong LL, Armugam A, Sepramaniam S, Karolina DS, Lim KY, Lim JY, et al. Circulating microRNAs in heart failure with reduced and preserved left ventricular ejection fraction. *European journal of heart failure*. 2015;17(4):393-404.

