

Doi:10.8004/rspp.2020.enero.74-79

ARTÍCULO DE REVISIÓN / REVIEW ARTICLE

Biogénesis y mecanismo de acción de los MicroARN como biomarcadores séricos en las enfermedades cardiovasculares

Biogenesis and mechanism of action of MicroRNAs as serum biomarkers in cardiovascular diseases

Christian Osmar Chávez Alfonso¹, Osmar Antonio, Centurión²

¹Universidad Nacional de Asunción, Hospital de Clínicas, División de Medicina Cardiovascular, San Lorenzo, Paraguay

²Sanatorio Metropolitano, Departamento de Investigación en Ciencias de la Salud, Fernando de la Mora, Paraguay

Autor correspondiente: Osmar Antonio Centurión, **e mail:** osmarcenturion@hotmail.com

Editor responsable: Ángel R. Rolón Ruíz Díaz.

Cómo referenciar este artículo: Chávez Alfonzo CO, Centurión OA. Biogénesis y mecanismo de acción de los MicroARN como biomarcadores séricos en las enfermedades cardiovasculares. Rev. salud publica Parag. 2020; 10(1): 74-79

Recibido: el 14/11/2019, aprobado para publicación el 3/02/2020

RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la principal causa de mortalidad y morbilidad en el mundo actualmente, lo que obliga a la realización de los continuos avances en las estrategias diagnóstico precoz y tratamiento con el fin de mejorar el pronóstico y disminuir la mortalidad. Sin duda esto abre las puertas al campo de la investigación y en los últimos años aparecen los llamados biomarcadores séricos y entre ellos los microARN (miARN) que juegan un papel fundamental tanto en el desarrollo y como en la regulación del sistema cardiovascular. Los microARN tienen un tamaño de 19-25 nucleótidos, son el grupo de ARN de pequeño tamaño que ha atraído mayor atención durante los últimos años. Hasta la fecha, se han identificado aproximadamente unos 2500 miARN en el genoma humano.

Los miARN desempeñan un papel en la regulación de diversos procesos biológicos, como la embriogénesis, la proliferación y diferenciación celular, la apoptosis o la

tumorigénesis. En el sistema cardiovascular, los miARN controlan el crecimiento y la contractilidad de los cardiomiocitos, el desarrollo y mantenimiento del ritmo cardíaco, la formación de la placa arterioesclerótica, el metabolismo de los lípidos y la angiogénesis. Además están vinculados en la fisiopatología de varias enfermedades cardiovasculares, fundamentalmente la insuficiencia cardíaca, el infarto de miocardio, la enfermedad coronaria, la aterosclerosis, y las cardiomiopatías de diversas etiologías, de allí que su determinación en la circulación podría ser de utilidad en la práctica clínica como potencial biomarcador diagnóstico y pronóstico de las enfermedades cardiovasculares.

Palabras clave: Micro RNA; Enfermedades cardiovasculares; Biomarcadores séricos.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are the main cause of mortality and morbidity in the world today, which forces the continuous progress in early diagnosis and treatment strategies in order to improve the prognosis and decrease mortality. Undoubtedly this opens the doors to the field of research and in recent years there are the so-called serum biomarkers and among them microRNAs (miRNAs) that play a fundamental role both in the development and in the regulation of the cardiovascular system. The microRNAs are 19 to 25 nucleotides in size, they are the small group of RNA that has attracted the most attention in recent years. To date, approximately 2,500 miRNAs have been identified in the human genome.

The miRNAs play a role in the regulation of various biological processes, such as embryogenesis, cell

proliferation and differentiation, apoptosis or oncogenesis. In the cardiovascular system, miRNAs control the growth and contractility of cardiomyocytes, the development and maintenance of heart rhythm, the formation of atherosclerotic plaque, lipid metabolism and angiogenesis. They are also linked in the pathophysiology of several cardiovascular diseases, mainly heart failure, myocardial infarction, coronary heart disease, atherosclerosis, and cardiomyopathies of various etiologies, hence their determination in circulation could be useful in clinical practice as a potential biomarker in the diagnosis and prognosis of cardiovascular diseases.

Keywords: Micro RNA; Cardiovascular diseases; Serum biomarkers.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la principal causa de mortalidad y morbilidad en el mundo actualmente, lo que obliga a la realización de los continuos avances en las estrategias diagnóstico precoz y tratamiento con el fin de mejorar el pronóstico y disminuir la mortalidad. Sin duda esto abre las puertas al campo de la investigación y en los últimos años aparecen los llamados biomarcadores séricos y entre ellos los microARN que juegan un papel fundamental tanto en el desarrollo y como en la regulación del sistema cardiovascular⁽¹⁻⁴⁾. Además están vinculados en la fisiopatología de varias enfermedades cardiovasculares, fundamentalmente la insuficiencia cardíaca, el infarto de miocardio, la enfermedad coronaria, la aterosclerosis, y las cardiomiopatías de diversas etiologías, de allí que su determinación en la circulación podría ser de utilidad en la práctica clínica como potencial biomarcador diagnóstico y pronóstico de las enfermedades cardiovasculares.

Alrededor del 1 al 3% del genoma humano contiene información relevante para la síntesis de proteínas⁽¹⁾, el resto es considerado con ADN basura o "junk". Sin embargo, eso no significa que no cumplen función alguna, en la actualidad se reconoce su papel trascendental en la regulación de la expresión génica, también llamados ARN funcionales o ARN no codificantes (ARNnc) no traducidos a proteínas a diferencia del ARN mensajero (ARNm)⁽²⁾.

Los ARNnc se clasifican en 2 subclases: ARNnc de cadena larga (mayores de 200 nucleótidos) y ARNnc

pequeños (menores de 200 nucleótidos). Los microARN (miARN), con un tamaño de 19-25 nucleótidos, son el grupo de ARN de pequeño tamaño que ha atraído mayor atención durante los últimos años desde su descubrimiento en el nematodo *Caenorhabditis elegans*, microARN lin-4⁽³⁾. Hasta la fecha, se han identificado aproximadamente 2500 miARN en el genoma humano⁽⁴⁾.

Los miARN afectan la producción de proteínas interactuando con los ARN mensajeros transcriptos (ARNm), silenciando así la expresión de genes⁽⁵⁾.

Los miARN desempeñan un papel en la regulación de diversos procesos biológicos, como la embriogénesis, la proliferación y diferenciación celular, la apoptosis o la tumorigénesis⁽⁶⁾. En el sistema cardiovascular, los miARN controlan el crecimiento y la contractilidad de los cardiomiocitos, el desarrollo y mantenimiento del ritmo cardíaco, la formación de la placa arterioesclerótica, el metabolismo de los lípidos y la angiogénesis⁽⁷⁾.

Los miARN circulantes intervienen en la regulación de las vías de señalización asociadas al envejecimiento y pueden utilizarse como nuevos marcadores de diagnóstico para enfermedades agudas y crónicas, como las patologías cardiovasculares. Se detectan en la circulación en forma estable, lo que los hace candidatos atractivos para biomarcadores no invasivos.

El objetivo de esta revisión es proporcionar una visión general de la biología de los miRNA, analizando su biogénesis y mecanismo de acción como biomarcadores séricos en las enfermedades cardiovasculares.

Biogénesis de los microARN y su mecanismo de acción.

Los miARN son secuencias de ARN no codificantes de un promedio de unos 22 nucleótidos de longitud. Su función principal es regular la expresión génica y el control del desarrollo del tejido y la homeostasis⁽⁸⁾. Los genes miARN son una parte integral conservada evolutivamente del genoma celular. Se pueden transcribir como unidades de transcripción independientes en regiones intergénicas o en los intrones y exones de genes codificadores de proteínas⁽⁵⁾.

Los genes miARN pueden existir individualmente o formar grupos que contienen múltiples componentes de miARN. Los miARN se transcriben en el núcleo por la ARN polimerasa II (ARN Pol II)⁽⁹⁾ y en menor medida por la ARN polimerasa III (ARN Pol III)⁽¹⁰⁾ a los miARN primarios (pri-miARN). Los pri-miARN son escindidos por un complejo de proteínas que contiene la RNasa III endonucleasa Drosha con el cofactor DGCR8 en aproximadamente 70 nucleótidos precursores miARN (pre-miARN) con una estructura en horquilla⁽¹¹⁾.

Una proteína dependiente de GTP, exportina-5, reconoce un tallo corto de 2-3 nucleótidos que sobresalen al final de los pre-miARN y los transporta del núcleo al citoplasma. Alternativamente, los pre-miARN se pueden procesar independientemente del complejo de Drosha a través del corte y empalme directo de intrones.

En el citoplasma, el pre-miARN se divide por la RNasa III endonucleasa y su cofactor la proteína de unión a ARN (TRBP) en aproximadamente 22 nucleótidos de doble cadena de miARN. Este miARN de doble hebra contiene la cadena de ARN guía (miARN) y la cadena de ARN pasajero (miARNp) que habitualmente se degrada. El complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC), que contiene las proteínas argonauta 2 (Ago2), se activa por la presencia del miARN y dirige el complejo de silenciamiento inducido por miARN (miRISC) al ARNm⁽⁹⁻¹¹⁾.

El sitio objetivo de miARN a menudo está presente en la región 3' no traducida (3'-UTR) del ARNm que contiene secuencias complementarias, denominadas elementos de reconocimiento de miARN⁽¹¹⁾. De acuerdo con la complementariedad perfecta o imperfecta de las secuencias miARN-ARNm, los miARN pueden reprimir la expresión génica induciendo la degradación del ARNm o bloqueando la traducción⁽¹²⁾.

La mayoría de los miRNA se localizan intracelularmente, pero algunos de ellos se liberan en la sangre en asociación

con proteínas (Ago2, nucleofosmina 1 y lipoproteínas) o como un componente de microvesículas derivadas de células (exosomas, o cuerpos apoptóticos). Los miARN pueden liberarse en respuesta a estímulos de activación celular, lesiones o después de la muerte celular⁽¹³⁾. En la circulación, los miARN se transportan a sitios distantes e interactúan con células fusionándose con la membrana celular o a través de la unión mediada por receptores, lo que sugiere que los miARN desempeñan un papel en la comunicación de célula a célula^(13,14).

Actúan como un auténtico sistema de comunicación intercelular regulando la expresión génica y el fenotipo de las células receptoras. Al igual que sus formas intracelulares, los miARN extracelulares participan tanto en respuestas fisiológicas y adaptativas como en el inicio y en el desarrollo de estados patológicos, incluyendo las enfermedades cardiovasculares.

MicroARN: Fisiología y fisiopatología cardiovascular

La alteración de los valores de expresión de miARN afecta directamente a la expresión de los ARNm diana y, por lo tanto, los miARN son elementos potencialmente causales de la enfermedad⁽¹⁵⁾.

La relevancia de la regulación de la expresión génica a través de los miARN en el desarrollo y en la homeostasis del sistema cardiovascular, así como la implicaciones de los miARN en la patología cardiovascular, están bien establecidas⁽⁸⁾. Tal es así que la alteración de los perfiles de expresión en los distintos tejidos que conforman el sistema cardiovascular se asocia con trastornos como la insuficiencia cardíaca, la aterosclerosis y las cardiomiopatías de diversa etiología⁽¹⁶⁾.

Los miARN se expresan en cardiomiocitos, fibroblastos, células endoteliales y células vasculares musculares lisas; controlan prácticamente todos los aspectos de la biología del sistema cardiovascular, incluyendo el remodelado y la fibrosis cardíaca, la apoptosis, la inflamación, la proliferación, la angiogénesis y el metabolismo.

La sobreexpresión, represión, deleciones, modificaciones epigenéticas o polimorfismos de un solo nucleótido en el miARN maduro pueden dar como resultado la eliminación o variaciones en la afinidad de unión al ARNm objetivo, desencadenando desequilibrios de regulación génica en condiciones normales y de enfermedad. Los estudios sobre la regulación epigenética de las vías relacionadas con enfermedad cardiovascular han ido en aumento con el objetivo de definir nuevos y potenciales marcadores de enfermedad útiles, como los miARN circulantes que son células-tejido específicas⁽¹⁷⁻²⁰⁾.

En realidad, algunos miARN en plasma son bastante particulares de las patologías cardiovasculares y, por lo tanto, pueden usarse con fines de diagnóstico, para monitoreo de la respuesta a la terapia estándar y actualmente incluidos en ensayos clínicos con finalidad terapéutica.

MicroARN circulantes y enfermedad cardiovascular

Se ha encontrado que los miARN circulantes son notablemente estables en plasma incluso en condiciones extremas como ebullición, pH bajo o alto, almacenamiento prolongado a temperatura ambiente y en varios ciclos múltiples de congelación-descongelación⁽¹⁸⁻²⁶⁾.

Curiosamente, los miARN circulantes están protegidos de la actividad ARNasa endógena, y actualmente existe evidencia de que esta protección se logra mediante el empaquetamiento de los miARN plasmáticos en micropartículas como los exosomas, microvesículas o cuerpos apoptóticos⁽¹⁹⁾, por la fijación a proteínas de unión a ARN por ejemplo, Argonauta 2 y nucleofosmina 1⁽²⁰⁾ o mediante unión a lipoproteína de alta densidad⁽²¹⁾.

Debido a su estabilidad en la circulación, los miARN se exploran actualmente por su potencial como biomarcadores en una amplia gama de enfermedades cardiovasculares⁽²⁷⁻³⁴⁾. El biomarcador ideal cumple una esta serie de criterios expresados.

Criterios y requisitos del biomarcador ideal

- 1) accesible mediante métodos no invasivos.
- 2) un alto grado de sensibilidad y especificidad a la enfermedad.
- 3) permitir la detección temprana.
- 4) sensibilidad a los cambios relevantes en la enfermedad.
- 5) una larga vida media dentro de la muestra.
- 6) la capacidad de detección rápida y precisa.

Los miARN circulantes cumplen prácticamente la mayoría de estos criterios expresados en la Tabla 1⁽²²⁾. A menudo están regulados de forma específica para el tejido y la patología, y se pueden detectar con alta sensibilidad y especificidad utilizando secuencias específicas de amplificación. Como son ácidos nucleicos, los miARN ofrecen ventajas sobre los biomarcadores utilizados en la actualidad en la práctica clínica; los biomarcadores basados en péptidos pueden presentar distintas variantes de la misma molécula y están sujetos a modificaciones post-traduccionales que dificultan su detección⁽³⁵⁻⁴⁰⁾. Debido a su pequeño tamaño y a su composición química, los miARN son moléculas menos complejas que la mayoría de las moléculas biológicas del plasma; lo que facilita su

determinación⁽²³⁾. Estos hallazgos han llevado a la idea de que los miARN circulantes podrían tener un papel potencial como biomarcadores en la detección de las diferentes entidades de enfermedades cardiovasculares⁽⁴¹⁻⁴⁵⁾.

CONCLUSIÓN

Los miARN desempeñan un papel en la regulación de diversos procesos biológicos, como la embriogénesis, la proliferación y diferenciación celular, la apoptosis o la tumorigénesis.

En el sistema cardiovascular, los miARN controlan el crecimiento y la contractilidad de los cardiomiocitos, el desarrollo y mantenimiento del ritmo cardíaco, la formación de la placa arterioesclerótica, el metabolismo de los lípidos y la angiogénesis.

Adicionalmente, están vinculados en la fisiopatología de varias enfermedades cardiovasculares, fundamentalmente la insuficiencia cardíaca, el infarto de miocardio, la enfermedad coronaria, la aterosclerosis, y las cardiomiopatías de diversas etiologías, de allí que su determinación en la circulación podría ser de utilidad en la práctica clínica como potencial biomarcador diagnóstico y pronóstico de las enfermedades cardiovasculares.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Venter JC1, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. Science. 2001 Feb 16;291(5507):1304-51.
2. Hüttenhofer A, Schattner P, Polacek N. Non-coding RNAs: hope or hype?. Trends Genet. 2005;21(5):289-97.
3. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. Cell 1993;75:843-54.
4. Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. Nucleic Acids Res. 2014;42:D68-D73.
5. Wahid F, Shehzad A, Khan T, Kim YY. MicroRNAs: Synthesis, mechanism, function, and recent clinical trials. Biochim Biophys Acta. 2010;1803:1231-1243.

6. Hata A. Functions of microRNAs in cardiovascular biology and disease. *Annu Rev Physiol.* 2013;75:69-93.
7. Wojciechowska A, Braniewska A, Kozar-Kamińska K. MicroRNA in cardiovascular biology and disease. *Adv Clin Exp Med.* 2017;26(5):865-874.
8. Small EM, Olson EN. Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology. *Nature.* 2011;469:336-342.
9. Cai X, Hagedorn CH, Cullen BR. Human MicroRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs. *RNA.* 2004 Dec;10(12):1957-66. Epub 2004 Nov 3.
10. Borchert GM, Lanier W, Davidson BL, RNA polymerase III transcribes human microRNAs. *Nat Struct Mol Biol.* 2006;13(12):1097-101.
11. Y. Lee, C. Ahn, J. Han, H. Choi, J. Kim, J. Yim, J. Lee, P. Provost, O. Radmark, S. Kim, V.N. Kim, The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature.* 2003;425(6956):415-9.
12. Bartel DP. MicroRNAs: genómica, biogénesis, mecanismo y función. *Cell.* 2004; 116 (2): 281 - 297.
13. Creemers EE, Tijssen AJ, Pinto YM. Circulating microRNAs: Novel biomarkers and extracellular communicators in cardiovascular disease? *Circ Res.* 2012;110:483-495.
14. Zhu H, Fan GC. Extracellular/circulating microRNAs and their potential role in cardiovascular disease. *Am J Cardiovasc Dis.* 2011;1:138-149.
15. Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet.* 2011;12:861-874.
16. Beermann J, Piccoli MT, Viereck J, Thum T. Non-coding RNAs in development and disease: background, mechanisms, and therapeutic approaches. *Physiol Rev.* 2016;96:1297-1325.
17. Fichtlscherer S, Zeiher AM, Dimmeler S. Circulating microRNAs: biomarkers or mediators of cardiovascular diseases. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2011;31(11):2383-2390.
18. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res.* 2008;18:997-1006.
19. Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, Sjostrand M, Lee JJ, Lotvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol.* 2007;9: 654-659.
20. Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, Ruf IK, Pritchard CC, Gibson DF, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108: 5003-5008.
21. Vickers KC, Palmisano BT, Shoucri BM, Shamburek RD, Remaley AT. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. *Nat Cell Biol.* 2011;13: 423-433.
22. Yan H, Ma F, Zhang Y, Wang C, Qiu D, Zhou K, Hua Y, Li Y. miRNAs as biomarkers for diagnosis of heart failure: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(22):e6825.
23. Wong L, Armugam A, Sepramaniam S, Karolina D, Lim K, Lim J, et al. Circulating microRNAs in heart failure with reduced and preserved left ventricular ejection fraction. *Eur J Heart Fail.* 2015;17(4):393-404.
24. Watson CJ, Gupta SK, O'Connell E, Thum S, Glezeva N, Fendrich J, et al. MicroRNA signatures differentiate preserved from reduced ejection fraction heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2015 Apr;17(4):405-15.
25. Masson S, Batkai S, Beermann J, Bär C, Pfanne A, Thum S, et al. Circulating micro-RNA-132 levels improve risk prediction for heart failure hospitalization in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2017; 20: 78-85.
26. Vogel B, Keller A, Frese KS, Leidinger P, Sedaghat-Hamedani F, Kayvanpour E, et al. Multivariate miRNA signatures as biomarkers for nonischemic systolic heart failure. *Eur Heart J* 2013;34(36):2812-23.

27. Bayés-Genis A, Lanfear DE, de Ronde MWJ, Lupón J, Leenders JJ, Liu Z, et al. Prognostic value of circulating microRNAs on heart failure-related morbidity and mortality in two large diverse cohorts of general heart failure patients. *Eur J Heart Fail.* 2018;20(1):67-75.
28. van Boven N, Kardys I, van Vark LC, Akkerhuis KM, de Ronde MWJ, Khan MAF, et al. Serially measured circulating microRNAs and adverse clinical outcomes in patients with acute heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2018. 20(1): 89-96.
29. He M, Yang Z, Abdellatif M, Sayed D. GTPase Activating Protein (Sh3 Domain) Binding Protein 1 Regulates the Processing of MicroRNA-1 during Cardiac Hypertrophy. *PLoS One.* 2015;10(12):e0145112.
30. Diniz GP, Lino CA, Guedes EC, Moreira Ldo N, Barreto-Chaves ML. Cardiac microRNA-133 is down-regulated in thyroid hormone-mediated cardiac hypertrophy partially via Type 1 Angiotensin II receptor. *Basic Res Cardiol.* 2015;110(5):49.
31. Wang D, Zhai G, Ji Y, Jing H. microRNA-10a Targets T-box 5 to Inhibit the Development of Cardiac Hypertrophy. *Int Heart J.* 2017;58(1):100-106.
32. Xiao Y, Zhang X, Fan S, Cui G, Shen Z. MicroRNA-497 Inhibits Cardiac Hypertrophy by Targeting Sirt4. *PLoS One.* 2016;11(12):e0168078.
33. Wang YS, Zhou J, Hong K, Cheng XS, Li YG. MicroRNA-223 displays a protective role against cardiomyocyte hypertrophy by targeting cardiac troponin I-interacting kinase. *Cell Physiol Biochem.* 2015;35(4):1546-56.
34. Yang Y, Zhou Y, Cao Z, Tong XZ, Xie HQ, Luo T, et al. miR-155 functions downstream of angiotensin II receptor subtype 1 and calcineurin to regulate cardiac hypertrophy. *Exp Ther Med.* 2016;12(3):1556-1562.
35. Bao Q, Zhao M, Chen L, Wang Y, Wu S, Wu W, et al. MicroRNA-297 promotes cardiomyocyte hypertrophy via targeting sigma-1 receptor. *Life Sci.* 2017;175:1-10.
36. Bang C, Batkai S, Dangwal S, Gupta SK, Foinquinos A, Holzmann A, et al. Cardiac fibroblast-derived microRNA passenger strand-enriched exosomes mediate cardiomyocyte hypertrophy. *J Clin Invest.* 2014;124(5):2136-46.
37. Huang ZP1, Chen J, Seok HY, Zhang Z, Kataoka M, Hu X, et al. MicroRNA-22 regulates cardiac hypertrophy and remodeling in response to stress. *Circ Res.* 2013;112(9):1234-43.
38. Huang Y, Li J. MicroRNA-208 family in cardiovascular diseases: therapeutic implication and potential biomarker. *J Physiol Biochem.* 2015;71(3):479-86.
39. Shyu KG, Wang BW, Cheng WP, Lo HM. MicroRNA-208a Increases Myocardial Endoglin Expression and Myocardial Fibrosis in Acute Myocardial Infarction. *Can J Cardiol.* 2015;31(5):679-90.
40. Jakob P, Kacprowski T, Briand-Schumacher S, Heg D, Klingenberg R, Stähli BE, Jaguszewski M, et al. Profiling and validation of circulating microRNAs for cardiovascular events in patients presenting with ST-segment elevation myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2017;38(7):511-515.
41. Wang Q, Ma J, Jiang Z, Wu F, Ping J, Ming L. Identification of microRNAs as diagnostic biomarkers for acute myocardial infarction in Asian populations: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(24):e7173.
42. O'Sullivan JF, Neylon A, McGorrian C, Blake GJ. miRNA-93-5p and other miRNAs as predictors of coronary artery disease and STEMI. *Int J Cardiol.* 2016;224:310-316.
43. Gao H, Guddeti RR, Matsuzawa Y, Liu LP, Su LX, Guo D, et al. Plasma levels of microRNA-145 are associated with severity of coronary artery disease. *PLoS One.* 2015;10(5):e0123477.
44. Navickas R, Gal D, Laucevičius A, Taparuskaitė A, Zdanytė M, Holvoet P. Identifying circulating microRNAs as biomarkers of cardiovascular disease: a systematic review. *Cardiovasc Res.* 2016;111(4):322-37.
45. Li YD, Hong YF, Yusufuaji Y. Altered expression of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels and microRNA-1 and -133 in patients with age-associated atrial fibrillation. *Mol Med Rep.* 2015 Sep;12(3):3243-3248.