

DETECCIÓN DE miR-126-3p Y EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN SNAIL EN VESÍCULAS EXTRACELULARES PEQUEÑAS (sEV) PLASMÁTICAS: IMPLICACIONES EN LA TRANSICIÓN EPITELIO-MESÉNQUIMA Y SU POTENCIAL COMO BIOMARCADORES EN ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

Osorio Jhon Jairo¹, Montoya Gladis Estella¹, Forero Yiby², Fiorentino Susana³, Gómez Luis Alberto^{1,4,*}

¹ Grupo de Fisiología Molecular, Subdirección de investigación científica y tecnológica, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C., Colombia.

² Grupo de Nutrición, Subdirección de investigación científica y tecnológica, Instituto Nacional de Salud, Bogotá D.C., Colombia.

³ Grupo de Inmunobiología y Biología Celular. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C., Colombia.

⁴ Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia.

* Investigador principal y autor de correspondencia

Resumen

La hipertensión, la diabetes y la aterosclerosis comparten mecanismos patogénicos como la disfunción endotelial y la inflamación crónica, y se ha identificado que las vesículas extracelulares pequeñas (sEV) juegan un papel clave en la modulación de estos procesos. Estas sEV, liberadas por células vasculares, actúan como mediadores en la comunicación celular, transportando proteínas y microRNAs (miRNAs) que pueden influir en la progresión de estas enfermedades. En este estudio, aislamos y caracterizamos sEV plasmáticas de pacientes con hipertensión y diabetes mediante ultracentrifugación diferencial, confirmando su identidad a través de microscopía electrónica, rastreo de nanopartículas y la presencia de marcadores como CD81 y TSG101. Los análisis revelaron la presencia del factor de transcripción Snail, un regulador clave en la transición epitelio-mesénquima (TEM), y el miRNA-126-3p, conocido por su rol en la angiogénesis y la protección del endotelio. Estos hallazgos sugieren que tanto Snail como el miRNA-126-3p transportados en las sEV plasmáticas podrían estar involucrados en los mecanismos moleculares subyacentes a la hipertensión, la diabetes y la aterosclerosis, ofreciendo su potencial como biomarcadores y posibles dianas terapéuticas en enfermedades cardiovasculares.

Palabras clave: Vesículas extracelulares pequeñas (sEV), Enfermedades cardiovasculares, Transición epitelio-mesénquima (TEM), Snail, miR-126-3p, Biomarcadores

Introducción

Las enfermedades cardiovasculares (ECV), principales causantes de morbilidad y mortalidad global afectan a más de 500 millones de personas y causaron 20.5 millones de muertes en 2021 (1). Estos trastornos están asociados con factores de riesgo como tabaquismo, inactividad física, dieta inadecuada, hipertensión, diabetes tipo 2, dislipidemia y obesidad (2). La aterosclerosis, una complicación clave, es una de las principales causas de muerte relacionadas con ECV (3). Normalmente, las células endoteliales previenen la activación plaquetaria y la inflamación mediante moléculas como óxido nítrico y prostaciclina, pero en la aterosclerosis se incrementa la expresión de moléculas de adhesión, facilitando la infiltración de leucocitos (4).

En este contexto, las vesículas extracelulares pequeñas (sEV) plasmáticas, liberadas por células endoteliales y del músculo liso vascular, son fundamentales en la comunicación intercelular y están implicadas en la progresión de patologías como la aterosclerosis (5,6). Estas sEV transportan proteínas, lípidos y ácidos nucleicos que afectan a las células receptoras, contribuyendo a la disfunción endotelial y la formación de placas ateroscleróticas (7,8,9). El factor de transcripción Snail, clave en la transición epitelio-mesénquima (TEM) y relacionado con la aterosclerosis (10), ha sido detectado en sEV, sugiriendo un papel en la mediación de TEM (11,12). Los microRNAs (miRNAs) en las sEV pueden regular la expresión de Snail y contribuir a procesos patológicos como la migración y proliferación celular (13).

No obstante, hasta la fecha, no se ha caracterizado completamente la presencia de la proteína Snail en las sEV ni se ha cuantificado su relación con enfermedades cardiovasculares específicas. Por tanto, este estudio tuvo como objetivo investigar la presencia de Snail y miR-126-3p en sEV plasmáticas circulantes, con el fin de comprender su posible contribución en la progresión de la aterosclerosis, especialmente en pacientes con hipertensión arterial y diabetes. Este enfoque podría abrir nuevas perspectivas sobre el uso de estas moléculas como biomarcadores y su potencial como blancos terapéuticos en el tratamiento de las ECV.

Justificación

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) y el cáncer son las principales causas de morbilidad y mortalidad globalmente y en Colombia (1). La hipertensión arterial (HTA) aumenta significativamente el riesgo de infartos y accidentes cerebrovasculares (3), mientras que la diabetes tipo 2 está asociada con disfunción endotelial y daño vascular, elevando el riesgo de aterosclerosis y otras complicaciones cardiovasculares (14). La coexistencia de HTA y diabetes acelera el desarrollo de ECV, haciendo crucial un tratamiento temprano y adecuado.

Ambas condiciones son factores de riesgo conocidos para la aterosclerosis, caracterizada por la acumulación de lípidos y células inflamatorias en las arterias, que lleva a su endurecimiento (15). El factor de transcripción Snail y el miR-126-3p, involucrados en la transición epitelio-mesénquima (TEM), están implicados en la

inflamación y fibrosis, que contribuyen a la remodelación vascular y disfunción endotelial, claves en la aterosclerosis (16). HTA y diabetes agravan estos procesos mediante estrés oxidativo, inflamación y alteraciones en la matriz extracelular, posiblemente modulados por Snail (17,18).

Por tanto, investigar los niveles de Snail y miR-126-3p en las vesículas extracelulares pequeñas (sEV) plasmáticas en pacientes con diabetes y HTA puede revelar mecanismos moleculares compartidos que aceleran la aterosclerosis. Esto podría mejorar nuestra comprensión de la enfermedad y facilitar la identificación de nuevos biomarcadores para gestionar mejor a los pacientes de alto riesgo.

Objetivo general: Identificar el miR-126-3p y el factor de transcripción Snail en vesículas extracelulares pequeñas (sEV) en pacientes con diagnóstico de hipertensión arterial y diabetes como factores de riesgo para la aterosclerosis.

Objetivos específicos:

1. Aislar y caracterizar vesículas extracelulares pequeñas (sEV) de muestras de plasma de pacientes con diabetes, hipertensión arterial, y ambas condiciones, en términos físicos, bioquímicos y ultraestructurales.
2. Detectar la presencia o ausencia de Snail y miR-126-3p en las sEV circulantes de pacientes con diabetes e hipertensión arterial.

Referentes teóricos

Las vesículas extracelulares pequeñas (sEV) han emergido como mensajeros clave en la comunicación celular en condiciones tanto fisiológicas como patológicas (19,20). Estas sEV son liberadas por diversas células y transportan biomoléculas como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, incluyendo microARNs (miRNAs) (21). Los miRNAs son pequeñas moléculas de ARN no codificante que regulan la expresión génica postranscripcional. Su desregulación está asociada con múltiples procesos biológicos y patologías, especialmente enfermedades cardiovasculares (ECV) (22).

Las ECV, que incluyen hipertensión, cardiopatía isquémica y aterosclerosis, son una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial (1). La aterosclerosis, en particular, es una enfermedad crónica caracterizada por la acumulación de lípidos y células inflamatorias en las paredes arteriales, formando placas que pueden obstruir el flujo sanguíneo y causar infartos cardíacos y cerebrovasculares (23,24).

Las sEV están siendo objeto de intenso estudio debido a su influencia en el microambiente vascular (25). Estas vesículas median la comunicación entre células endoteliales, células musculares lisas y células inmunitarias, y pueden promover o reducir la inflamación y la remodelación vascular asociadas con la progresión de la aterosclerosis (26).

Además, los miRNAs encapsulados en sEV pueden actuar tanto como biomarcadores como mediadores de procesos patogénicos en las ECV (27). Por ejemplo, algunos miRNAs en las sEV regulan genes relacionados con la respuesta inflamatoria y la homeostasis de lípidos, afectando la estabilidad de las placas ateroscleróticas (28). Estos hallazgos destacan el potencial de las sEV y los miRNAs como herramientas diagnósticas y terapéuticas en el manejo de las enfermedades cardiovasculares, abriendo nuevas vías para tratamientos más específicos y efectivos. Así, esta investigación se centra en evaluar la relación entre sEV, miRNAs, factores de transcripción como SNAIL, y las ECV, con un enfoque particular en la aterosclerosis y la diabetes.

Materiales y métodos

Criterios de inclusión de pacientes y consideraciones éticas: Se seleccionaron pacientes mayores de 18 años, tanto hombres como mujeres, inscritos en el programa de enfermedades no transmisibles de Riohacha, Manaure y Maicao, con diagnóstico de diabetes tipo 2 o hipertensión. Se excluyeron personas sin nacionalidad colombiana y adultos mayores con discapacidades. Los controles fueron personas aparentemente sanas. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto Nacional de Salud (CEMIN) bajo el acta número 20 del 2023, Proyecto CEMIN-16-2023. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado antes de participar en la investigación.

Obtención de sEV: Las muestras de plasma se descongelaron y se centrifugaron inicialmente a 8.000 xg durante 30 minutos a 4°C. El sobrenadante se centrifugó nuevamente a 12.000 xg por 30 minutos a 4°C. Luego, se sometió a ultracentrifugación diferencial: primero a 19.000 xg, seguido por filtración con filtros de 0.22 µm y ultracentrifugación a 100.000 xg durante 120 minutos, dos veces. La fracción enriquecida en sEV se almacenó a -80°C. El aislamiento se realizó con el rotor TH-641 y tubos de polipropileno de 10 mL, utilizando buffer PBS fresco y manteniendo las muestras a 4°C y en hielo durante el proceso. Los pellets obtenidos se suspendieron en PBS para ensayos posteriores.

Cuantificación de proteínas: La cuantificación de proteínas se realizó con el kit BCA, siguiendo el protocolo del fabricante con un estándar de albumina sérica bovina (BSA) y una curva de calibración de 0 a 1500 µg/mL. También se utilizó el protocolo microBCA con una curva de 0 a 250 µg/mL. La absorbancia se midió con el equipo Glomax.

Caracterización de sEV: Las sEV se caracterizaron bioquímicamente mediante SDS-PAGE, ensayo de Coomassie y tinción con plata, y se evaluaron marcadores vesiculares (CD81, TSG101) y contaminantes como el citocromo C por Western Blot. Se utilizó el sistema LM10 NanoSight NS300 para medir el tamaño y cantidad de partículas. La caracterización morfológica se realizó mediante tinción negativa y observación con STEM usando un microscopio electrónico de barrido (SEM Tescan modelo Lyr 3) a 30kV.

Detección de marcadores y proteína Snail: La detección de marcadores exosomales y de transición epitelio-mesénquima (TEM) se realizó por Western Blot utilizando anticuerpos específicos. Las sEV se resuspendieron en PBS, y la concentración proteica se cuantificó con el kit BCA. Se cargaron 5 µg de proteína por muestra en gel SDS-PAGE, y las proteínas se transfirieron a una membrana de PVDF para la detección con anticuerpos primarios y secundarios marcados con HRP. La inmunodetección se llevó a cabo con quimioluminiscencia y se analizó densitométricamente.

Detección de miRNAs: Para extraer RNA total de las sEV, se suspendieron en PBS y se lisaron con TRIzol LS y cloroformo. El RNA se recuperó mediante precipitación con acetato de sodio y etanol, y se cuantificó con el equipo NanoDrop One. La detección de miRNAs se realizó mediante PCR utilizando el kit GoTaq® qPCR, con una retrotranscripción previa y amplificación en un termociclador BIO-RAD CFX96 y los oligonucleótidos descritos en la tabla1. Se analizó la curva de disociación con el software CFX Maestro 2.3.

Tabla 1. Secuencias de los oligonucleótidos utilizados para los ensayos de detección de miRNAs por PCR.

Oligo	Secuencia
miR-208-3p F	5' CGCCCGCATAAGACGAGCAAAAA 3'
miR-126-3p	5' GGCGGCTCGTACCGTGAGTAAT 3'
miR-34a-5p	5' CGGCTGGCAGTGTCTTAGCT 3'
miR-99b-5p	5' CGCCACCCGTAGAACCGAC 3'
Stem-Loop poliT	5' GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGACTGGATACGACTTTTTTTTTTTTNN 3'
Reverso universal	5' CCA GTG CAG GGT CCG AGG TA 3'

Resultados

Caracterización Física, Morfológica y Bioquímica de las sEV de Pacientes

Las sEV de muestras de pacientes con diabetes tipo 2 e hipertensión fueron caracterizadas física, morfológica y bioquímicamente. Se observó que las sEV tenían tamaños entre 60 y 150 nm. La concentración promedio de partículas fue mayor en pacientes con hipertensión, seguida por pacientes con diabetes o ambas condiciones (Figura 1 A y B). Sin embargo, en pacientes con ambas condiciones, la concentración de partículas no mostró un comportamiento aditivo y, en cambio, disminuyó. La caracterización por microscopia electrónica confirmó que las sEV presentan una forma redondeada típica.

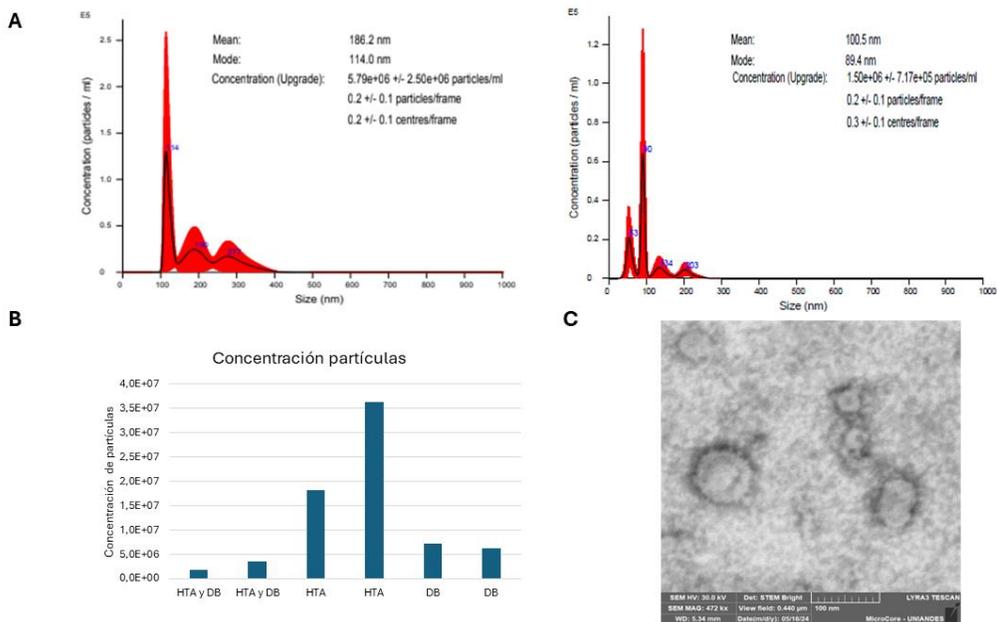


Figura 1. A. Imágenes representativas de la caracterización por NTA de las sEV obtenidas mediante ultracentrifugación (UC) en dos muestras de pacientes. B. Concentración de partículas en muestras representativas de pacientes. C. Imágenes representativas de sEV obtenidas mediante SEM, con una escala de 100 nm.

Caracterización bioquímica de las sEV plasmáticas

Se realizó la detección de marcadores exosomales, como CD81 y TSG101, en las sEV. Los resultados, mostrados en la Figura 2, indican la presencia de proteínas con pesos moleculares mayores a los esperados: CD81 (25 kDa esperado; 55-70 kDa observado) y TSG101 (44 kDa esperado; 55-70 kDa observado). Esto sugiere la formación de complejos multiprotéicos que incluyen estos marcadores y otras proteínas. Los hallazgos también se observaron en proteínas relacionadas con la transición epitelio-mesénquima (TEM), como se muestra en la Figura 3. Estos resultados sugieren que las sEV plasmáticas pueden contener complejos proteicos y estructuras que transportan moléculas con potencial biológico en la sangre.

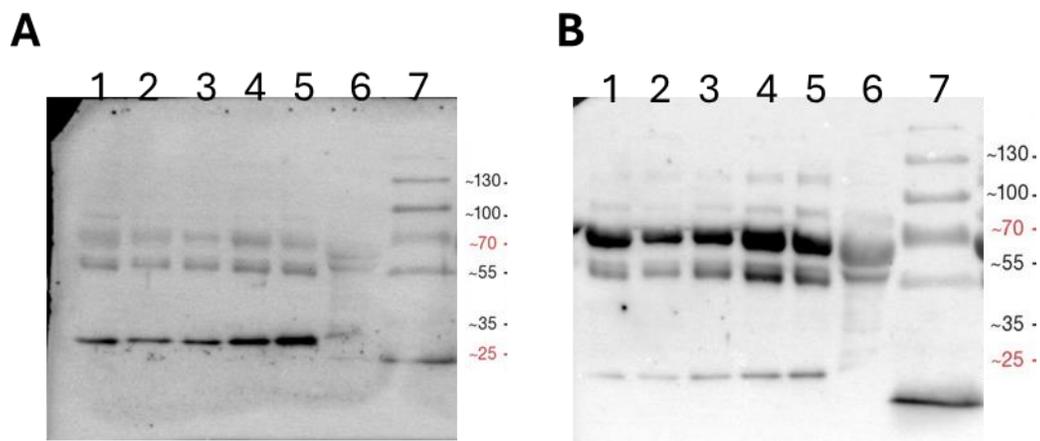


Figura 2. Detección de marcadores exosomales en sEV plasmáticas obtenidas por ultracentrifugación. El plasma de pacientes y controles fue sometido a centrifugación diferencial para aislar las sEV. La detección de CD81 (A) y TSG101 (B) se realizó por Western Blot (WB). Los resultados son representativos de tres experimentos independientes. Las líneas 1-5 corresponden al plasma de los individuos del estudio, mientras que la línea 6 muestra sEV de la línea celular de melanoma humano A375.

Detección de marcadores de transición epitelio-mesénquima en sEV plasmáticas

Para investigar la presencia de marcadores de transición epitelio-mesénquima (TEM) en las sEV, se realizó un ensayo de Western Blot. Los resultados indicaron que las sEV plasmáticas mostraron señales positivas para ZEB-2, N-caderina, β -catenina, ZEB-1 y Snail (Figura 3A), sugiriendo que estos marcadores están presentes en complejos multiprotéicos, al igual que los marcadores exosomales. En particular, se observó una señal destacada para Snail (Figura 3B).

Dado que Snail se ha asociado con condiciones clínicas como la aterosclerosis, se evaluó su nivel en relación con las enfermedades estudiadas. Los resultados mostraron que los niveles de Snail eran significativamente menores en individuos con hipertensión arterial (HTA) en comparación con aquellos con diabetes, quienes presentaron niveles similares a los de los individuos con ambas condiciones y los controles (Figura 4B).

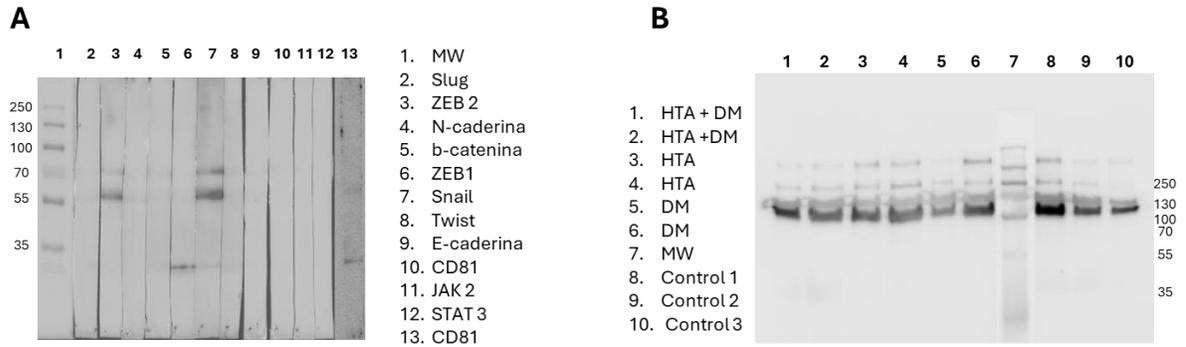


Figura 3. Detección de marcadores de transición epitelio-mesénquima (TEM) en sEV plasmáticas obtenidas por ultracentrifugación. Los plasmas de pacientes y controles se sometieron a centrifugación seriada para aislar las sEV. (A) Se realizó Western Blot (WB) para detectar proteínas asociadas con TEM. (B) La presencia de Snail se evaluó en diferentes condiciones clínicas mediante WB. HTA: Hipertensión arterial. DM: Diabetes mellitus tipo 2.

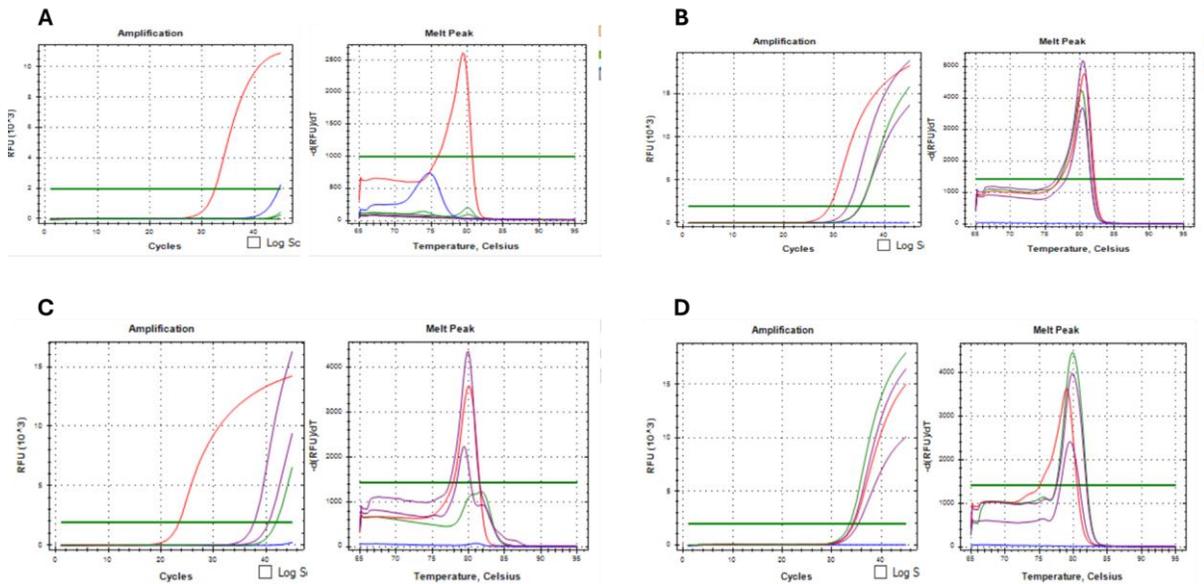


Figura 4. Detección de miRNAs en sEV plasmáticas. Se utilizó PCR para evaluar la presencia o ausencia de los miRNAs miR-34a-5p (A), miR-99b-5p (B), miR-126-3p (C) y miR-208a-3p. El control positivo se muestra en rojo (cardiomiocitos), las muestras de los individuos del estudio en color lila, el control negativo en azul y el control de oligonucleótidos en verde.

Detección de miRNAs en sEV plasmáticas mediante PCR Stem-loop Poli T

Se evaluó la presencia de miRNAs asociados con enfermedades cardiovasculares, como la hipertensión y la aterosclerosis, en sEV. Se detectó miR-126-3p en las sEV plasmáticas circulantes, mientras que miR-208a-3p, miR-34a-5p y miR-99b-5p no se encontraron (Figura 4). Los picos observados en la curva de disociación para los controles positivo y de oligonucleótidos se interpretaron como artefactos, debido a

la formación de dímeros o señales no específicas del oligonucleótido Stem-Loop Poli T.

Discusión de resultados

Caracterización de las sEV provenientes de plasma de pacientes

La caracterización de las vesículas extracelulares pequeñas (sEV) se llevó a cabo utilizando ultracentrifugación diferencial a 100.000 xg a partir del plasma de pacientes. Se emplearon técnicas como Western blot, rastreo cuantitativo de nanopartículas (NTA) y microscopía electrónica de barrido (SEM). Los resultados revelaron diferencias en el perfil de secreción entre los pacientes, con un aumento notable en la concentración de partículas en aquellos con hipertensión arterial (HTA). La caracterización bioquímica confirmó la presencia de marcadores vesiculares esperados, lo que indica un aislamiento exitoso de sEV, separado de las microvesículas. La ultracentrifugación demostró ser efectiva en la obtención de sEV con composiciones proteicas específicas, sugiriendo variabilidad en la producción de vesículas asociada con distintas condiciones patológicas (Figura 1). Estos hallazgos destacan la importancia de entender la dinámica de secreción y concentración de estas vesículas, así como su contenido proteico. La mayor cantidad de partículas en pacientes con HTA está en línea con el estudio de Tong X. et al. (2023), que reportó niveles elevados de sEV en plasma de pacientes con enfermedades cardiovasculares (29).

Detección de marcadores de transición epitelio-mesénquima (TEM) en sEV

Un objetivo principal de esta investigación fue identificar marcadores de transición epitelio-mesénquima (TEM) en las sEV. Se logró detectar las proteínas ZEB-2, N-caderina, β -catenina, ZEB-1 y Snail, siendo la presencia de Snail particularmente relevante. Estos resultados son consistentes con los obtenidos por Mirzaei S. *et al.* (2023) y Shen Y. & Tan Tai J. (2023), quienes describen la presencia de estas proteínas en cultivos celulares y su asociación con miRNAs que modulan la TEM (32,33). La presencia de proteínas asociadas con TEM puede influir en la secreción y el sorting de las sEV (34). Snail, en particular, es un factor de transcripción clave en la TEM y se ha demostrado que promueve la liberación de exosomas cargados con miRNAs como miR21 (35,36).

La aterosclerosis, estrechamente relacionada con la hipertensión, presenta una relación bidireccional con esta condición. La hipertensión puede acelerar la aterosclerosis al dañar las arterias y promover la inflamación, mientras que la aterosclerosis puede contribuir a la hipertensión al endurecer y estrechar las arterias, aumentando así el riesgo de complicaciones cardiovasculares como infartos de miocardio y accidentes cerebrovasculares (15,24). Snail ha sido implicado en la formación de placas ateroscleróticas y en un proceso conocido como transición endotelio-mesenquimal (TEndM), donde las células endoteliales pierden sus propiedades endoteliales y adoptan un fenotipo mesenquimal similar al de los miofibroblastos y las células musculares lisas. Este proceso es crucial para la

progresión de la aterosclerosis, y Snail está asociado con él, a menudo en combinación con Slug (12,37–39). Además, Qiang Su et al. (2018) mostraron que la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (ox-LDL) regula positivamente Snail y que la eliminación de Snail atenúa el TEndM inducido por ox-LDL, destacando el papel esencial de Snail en este proceso (40). Esto sugiere una posible relación entre nuestros resultados y las condiciones clínicas evaluadas.

Detección de miRNAs en sEV plasmáticas mediante PCR Stem-loop Poli T

Finalmente, se evaluó la presencia de miRNAs asociados con enfermedades cardiovasculares en las sEV, encontrando miR-126-3p. La expresión de miR-126-3p está restringida a células endoteliales y se regula negativamente durante la TEndM. La sobreexpresión de miR-126-3p puede reducir la TEndM (41). Estudios previos han mostrado un aumento de miR-126-3p en pacientes hipertensos con albuminuria, sugiriendo que este miRNA podría servir como marcador pronóstico de eventos cardiovasculares a largo plazo. Además, miR-126-3p ha sido vinculado con el cáncer y la aterosclerosis al afectar genes diana similares o diferentes (42). También se ha demostrado que los miRNAs pueden regular la expresión de Snail al unirse a su 3'UTR (43).

Estos resultados sugieren que los componentes de las sEV podrían ser biomarcadores tempranos y posibles dianas terapéuticas para enfermedades interrelacionadas, ofreciendo nuevas oportunidades para desarrollar estrategias diagnósticas y terapéuticas dirigidas a mitigar el impacto de estas condiciones crónicas. No obstante, se requiere más investigación para validar estos biomarcadores en cohortes más amplias y para entender mejor sus mecanismos de acción. Además, explorar la relación entre sEV y otras condiciones patológicas podría proporcionar información valiosa para el desarrollo de marcadores predictivos e intervenciones más efectivas. A futuro, es fundamental correlacionar los niveles de biomarcadores como Snail y miR-126-3p con la progresión de la enfermedad cardiovascular, la respuesta al tratamiento y factores como la dieta. Este nuevo enfoque laboratorio clínico permite su aplicación en grandes cohortes y estudios predictivos, facilitando un diagnóstico ex-situ más preciso y temprano de enfermedades cardiovasculares. Esto tendría un impacto considerable en la prevención, especialmente en poblaciones remotas con acceso limitado a servicios de salud.

Conclusiones

El estudio sugiere que las vesículas extracelulares pequeñas (sEV) desempeñan un papel crucial en la regulación de la transición epitelio-mesénquima (TEM) y en la patogénesis de enfermedades cardiovasculares, evidenciado por la presencia de Snail en sEV y la detección específica de miR-126-3p, que subraya su relevancia en la modulación de vías asociadas a la aterosclerosis. Además, la mayor concentración de sEV en plasma de pacientes con hipertensión y la aparición de marcadores vesiculares TSG101 y CD81 en pesos moleculares superiores a los esperados sugieren la formación de complejos macromoleculares. Estos resultados

resaltan el potencial de las sEV como biomarcadores y en el desarrollo de nuevas terapias dirigidas para preservar la función endotelial y prevenir complicaciones cardio-cerebrovasculares.

Referencias bibliográficas

1. World Heart Federation. WORLD HEART REPORT 2023 CONFRONTING THE WORLD ' S NUMBER. 2023.
2. Malik S, Budoff MJ, Katz R, Blumenthal RS, Bertoni AG, Nasir K, et al. Impact of subclinical atherosclerosis on cardiovascular disease events in individuals with metabolic syndrome and diabetes: The multi-ethnic study of atherosclerosis. *Diabetes Care*. 2011;34(10):2285–90.
3. Roth GA, Abate D, Abate KH, Abay SM, Abbafati C, Abbasi N, et al. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018;392(10159):1736–88.
4. Mussbacher M, Schossleitner K, Kral-Pointner JB, Salzmann M, Schrammel A, Schmid JA. More than Just a Monolayer: the Multifaceted Role of Endothelial Cells in the Pathophysiology of Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* [Internet]. 2022;24(6):483–92. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11883-022-01023-9>
5. Hutcheson JD, Aikawa E. Extracellular vesicles in cardiovascular homeostasis and disease. *Curr Opin Cardiol*. 2018;33(3):290–7.
6. Lane RE, Korbie D, Trau M, Hill MM. Optimizing Size Exclusion Chromatography for Extracellular Vesicle Enrichment and Proteomic Analysis from Clinically Relevant Samples. *Proteomics*. 2019;19(8).
7. Han C, Yang J, Sun J, Qin G. Extracellular vesicles in cardiovascular disease: Biological functions and therapeutic implications. *Pharmacol Ther*. 2022;233:1–44.
8. Olejarz W, Sadowski K, Radoszkiewicz K. Extracellular Vesicles in Atherosclerosis: State of the Art. *Int J Mol Sci*. 2024;25(1).
9. Peng M, Liu X, Xu G. Extracellular Vesicles as Messengers in Atherosclerosis. *J Cardiovasc Transl Res*. 2020;13(2):121–30.
10. Helmke A, Casper J, Nordlohne J, David S, Haller H, Zeisberg EM, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition shapes the atherosclerotic plaque and modulates macrophage function. *FASEB J*. 2019;33(2):2278–89.
11. You J, Li M, Cao LM, Gu QH, Deng PB, Tan Y, et al. Snail1-dependent cancer-associated fibroblasts induce epithelial-mesenchymal transition in lung cancer cells via exosomes. *QJM An Int J Med* . 2019;112(8):581–90.
12. Souilhol C, Harmsen MC, Evans PC, Krenning G. Endothelial-mesenchymal transition in atherosclerosis. *Cardiovasc Res*. 2018;114(4):565–77.
13. Gisterá A, Hansson GK. The immunology of atherosclerosis. *Nat Rev Nephrol*. 2017;13(6):368–80.
14. La Sala L, Prattichizzo F, Ceriello A. The link between diabetes and atherosclerosis. *Eur J Prev Cardiol*. 2019;26(2_suppl):15–24.
15. Alatab S, Fakhrzadeh H, Sharifi F, Mostashfi A, Mirarefin M, Badamchizadeh Z, et al. Impact of hypertension on various markers of subclinical atherosclerosis in early type 2 diabetes. *J Diabetes Metab Disord*. 2014;13(1):1–8.
16. Pan J an, Zhang H, Lin H, Gao L, Zhang H li, Zhang J feng, et al. Irisin ameliorates doxorubicin-induced cardiac perivascular fibrosis through inhibiting endothelial-to-mesenchymal transition by regulating ROS accumulation and autophagy disorder in endothelial cells. *Redox Biol* [Internet]. 2021;46:102120. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.102120>
17. Čolak E, Majkić-Singh N, Stanković S, Srecković-Dimitrijević V, Djordjević PB, Lalić K, et al. Parameters of antioxidative defense in type 2 diabetic patients with cardiovascular complications. *Ann Med*. 2005;37(8):613–20.

18. Alswailmi FK. A Cross Talk between the Endocannabinoid System and Different Systems Involved in the Pathogenesis of Hypertensive Retinopathy. *Pharmaceuticals*. 2023;16(3).
19. Becker A, Thakur BK, Weiss JM, Kim HS, Peinado H, Lyden D. Extracellular Vesicles in Cancer: Cell-to-Cell Mediators of Metastasis. *Cancer Cell*. 2016;30(6):836–48.
20. Biemmi V, Milano G, Ciullo A, Cervio E, Burrello J, Cas MD, et al. Inflammatory extracellular vesicles prompt heart dysfunction via TRL4-dependent NF- κ B activation. *Theranostics*. 2020;10(6):2773–90.
21. Gurung S, Perocheau D, Touramanidou L, Baruteau J. The exosome journey: from biogenesis to uptake and intracellular signalling. *Cell Commun Signal [Internet]*. 2021;19(1):1–19. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12964-021-00730-1>
22. Sessa F, Salerno M, Esposito M, Cocimano G, Pomara C. miRNA Dysregulation in Cardiovascular Diseases: Current Opinion and Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2023;24(6).
23. Fernando L, Pamela S, Alejandra L. Cardiovascular disease in latin america: The growing epidemic. *Prog Cardiovasc Dis*. 2014;57(3):262–7.
24. Rafieian-Kopaei M, Setorki M, Doudi M, Baradaran A, Nasri H. Atherosclerosis: Process, Indicators, Risk Factors and New Hopes, *International Journal of Preventive Medicine*. *Int J Prev Med [Internet]*. 2014;5(8):927–46. Available from: www.ijpm.ir
25. Gaceb A, Martinez MC, Andriantsitohaina R. Extracellular vesicles: New players in cardiovascular diseases. *Int J Biochem Cell Biol [Internet]*. 2014;50(1):24–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2014.01.018>
26. Reiss AB, Ahmed S, Johnson M, Saeedullah U, De Leon J. Exosomes in Cardiovascular Disease: From Mechanism to Therapeutic Target. *Metabolites*. 2023;13(4).
27. Xu D, Di K, Fan B, Wu J, Gu X, Sun Y, et al. MicroRNAs in extracellular vesicles: Sorting mechanisms, diagnostic value, isolation, and detection technology. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022;10(October):1–20.
28. Yang W, Pan X, Ma A. The Potential of Exosomal RNAs in Atherosclerosis Diagnosis and Therapy. *Front Neurol*. 2021;11(February):1–6.
29. Tong X, Dang X, Liu D, Wang N, Li M, Han J, et al. Exosome-derived circ_0001785 delays atherogenesis through the ceRNA network mechanism of miR-513a-5p/TGFBR3. *J Nanobiotechnology [Internet]*. 2023;21(1):1–16. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12951-023-02076-x>
30. Qiu X, Campos Y, van de Vlekkert D, Gomero E, Tanwar AC, Kalathur R, et al. Distinct functions of dimeric and monomeric scaffold protein Alix in regulating F-actin assembly and loading of exosomal cargo. *J Biol Chem [Internet]*. 2022;298(10):102425. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.102425>
31. Frolikova M, Manaskova-Postlerova P, Cerny J, Jankovicova J, Simonik O, Pohlova A, et al. CD9 and CD81 interactions and their structural modelling in sperm prior to fertilization. *Int J Mol Sci*. 2018;19(4).
32. Nakayama F, Miyoshi M, Kimoto A, Kawano A, Miyashita K, Kamoshida S, et al. Pancreatic cancer cell-derived exosomes induce epithelial-mesenchymal transition in human pancreatic cancer cells themselves partially via transforming growth factor β 1. *Med Mol Morphol [Internet]*. 2022;55(3):227–35. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00795-022-00321-0>
33. Rahman MA, Barger JF, Lovat F, Gao M, Otterson GA, Nana-Sinkam P. Lung cancer exosomes as drivers of epithelial mesenchymal transition. *Oncotarget*. 2016;7(34):54852–66.
34. Chen C, Ma Z, Jiang H. EMT Participates in the Regulation of Exosomes Secretion and Function in Esophageal Cancer Cells. *Technol Cancer Res Treat*. 2021;20:1–11.
35. Jiang J, Li J, Zhou X, Zhao X, Huang B, Qin Y. Exosomes Regulate the Epithelial–Mesenchymal Transition in Cancer. *Front Oncol*. 2022;12(March):1–10.
36. Hsieh CH, Tai SK, Yang MH. Snail-overexpressing Cancer Cells Promote M2-Like Polarization of Tumor-Associated Macrophages by Delivering MiR-21-Abundant Exosomes. *Neoplasia (United States) [Internet]*. 2018;20(8):775–88. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neo.2018.06.004>
37. Ledard N, Liboz A, Blondeau B, Babiak M, Moulin C, Vallin B, et al. Slug, a Cancer-Related

Transcription Factor, is Involved in Vascular Smooth Muscle Cell Transdifferentiation Induced by Platelet-Derived Growth Factor-BB During Atherosclerosis. *J Am Heart Assoc.* 2020;9(2).

38. Zhang J, Ogbu SC, Musich PR, Thewke DP, Yao Z, Jiang Y. The Contribution of Endothelial-Mesenchymal Transition to Atherosclerosis. *Int J Transl Med.* 2021;1(1):39–54.
39. Mahmoud MM, Serbanovic-Canic J, Feng S, Souilhol C, Xing R, Hsiao S, et al. Shear stress induces endothelial-to-mesenchymal transition via the transcription factor Snail. *Sci Rep.* 2017;7(1):1–12.
40. Su Q, Sun Y, Ye Z, Yang H, Li L. Oxidized low density lipoprotein induces endothelial-to-mesenchymal transition by stabilizing Snail in human aortic endothelial cells. *Biomed Pharmacother [Internet].* 2018;106(July):1720–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.122>
41. Jordan NP, Tingle SJ, Shuttleworth VG, Cooke K, Redgrave RE, Singh E, et al. Mir-126-3p is dynamically regulated in endothelial-to-mesenchymal transition during fibrosis. *Int J Mol Sci.* 2021;22(16).
42. Yang QY, Yu Q, Zeng WY, Zeng M, Zhang XL, Zhang YL, et al. Killing two birds with one stone: miR-126 involvement in both cancer and atherosclerosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2022;26(17):6145–68.
43. Skrzypek K, Majka M. Interplay among SNAIL Transcription Factor, MicroRNAs, Long Non-Coding RNAs, and Circular RNAs in the Regulation of Tumor Growth and Metastasis. *Cancers (Basel) [Internet].* 2020 Jan 14;12(1):209. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/12/1/209>

Agradecimientos: Este trabajo recibió apoyo financiero del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación proyecto 798 de 2023 y del Instituto Nacional de Salud, Colombia Proyecto CEMIN-16-2023.

Autor de correspondencia: Dr. Luis Alberto Gómez Grosso. Coordinador del Grupo de Fisiología Molecular. Dirección de Investigación en Salud Pública. Instituto Nacional de Salud. Av. 26 #51-20, Bogotá. Teléfono 2207700 Ext 1419. Correo electrónico: lgomez@ins.gov.co