

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), marzo-abril 2025,
Volumen 9, Número 2.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v9i2

ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DIFERENCIAL DEL PERFIL MIRNAS PLASMÁTICOS POR LA INFECCIÓN SARS-COV-2 EN PERSONAS CON VIH

**DIFFERENTIAL EXPRESSION ANALYSIS OF PLASMA MIRNA
PROFILES DUE TO SARS-COV-2 INFECTION IN HIV-INFECTED
INDIVIDUALS**

Diana González Villegas
Universidad Europea, Costa Rica

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v9i2.17144

Análisis de Expresión Diferencial del Perfil miRNAs Plasmáticos por la Infección SARS-CoV-2 en Personas con VIH

Diana González Villegas¹diana_0496@hotmail.com<https://orcid.org/0009-0001-6184-5424>

Universidad Europea

Costa Rica

RESUMEN

El virus del VIH es una epidemia mundial que altera la funcionalidad del sistema inmunológico, haciendo a las personas afectadas más sensibles a desarrollar comorbilidades. Comprender las interacciones entre el VIH y otras infecciones, como el SARS-CoV-2, es fundamental para mejorar la atención y el manejo de esta población. Por ello, en este estudio hemos querido descifrar la expresión diferencial de microARNs (miRNAs) plasmáticos en personas con VIH (PVIH) que se han recuperado de la infección por SARS-CoV-2, comparándolos con PVIH sin antecedentes de COVID-19. Para alcanzar este objetivo nuestra cohorte está formada por 20 PVIH que han sufrido una infección por SARS-CoV-2 al menos 4 semanas antes de la toma de la muestra y 18 PVIH sin historial previo de infección por SARS-CoV-2. Con el RNA total de células mononucleares de sangre periférica, hemos utilizado técnicas de secuenciación de ARN, análisis bioinformático, análisis exploratorio y de expresión diferencial mediante modelos lineales generalizados con distribución binomial negativa. Tras el preprocesado y normalización, se identificaron hasta 49 miRNAs expresados diferencialmente, proporcionando evidencia de alteraciones persistentes en la regulación génica post-COVID. De la misma manera, el análisis exploratorio reveló dos perfiles de expresión completamente diferenciados. Los resultados indican que la infección por SARS-CoV-2 en PVIH genera cambios duraderos en la expresión de miRNAs, incluso después de la recuperación clínica, lo que podría influir en la aparición de comorbilidades y complicaciones a largo plazo. Este trabajo destaca la importancia de continuar investigando la relación entre COVID-19 y VIH para desarrollar estrategias diagnósticas y terapéuticas más efectivas.

Palabras claves: VIH, microARNs (miRNAs), SARS-CoV-2

¹ Autor principalCorrespondencia: diana_0496@hotmail.com

Differential Expression Analysis of Plasma miRNA Profiles due to SARS-CoV-2 Infection in HIV-Infected Individuals

ABSTRACT

HIV is a global epidemic that impairs the function of the immune system, making affected individuals more susceptible to developing comorbidities. Understanding the interactions between HIV and other infections, such as SARS-CoV-2, is crucial for improving the care and management of this population. Therefore, in this study, we aimed to decipher the differential expression of plasma microRNAs (miRNAs) in people living with HIV (PLWH) who have recovered from SARS-CoV-2 infection, compared to PLWH with no history of COVID-19. To achieve this objective, our cohort consisted of 20 PLWH who had suffered a SARS-CoV-2 infection at least 4 weeks prior to sample collection and 18 PLWH with no previous history of SARS-CoV-2 infection. Using total RNA from peripheral blood mononuclear cells, we employed RNA sequencing techniques, bioinformatics analysis, exploratory analysis, and differential expression analysis using generalized linear models with a negative binomial distribution. After preprocessing and normalization, up to 49 differentially expressed miRNAs were identified, providing evidence of persistent alterations in post-COVID gene regulation. Similarly, exploratory analysis revealed two completely differentiated expression profiles. The results indicate that SARS-CoV-2 infection in PLWH induces lasting changes in miRNA expression, even after clinical recovery, which could influence the occurrence of comorbidities and long-term complications. This work highlights the importance of continuing to investigate the relationship between COVID-19 and HIV to develop more effective diagnostic and therapeutic strategies.

Keywords: HIV, microRNAs (miRNAs), SARS-CoV-2

*Artículo recibido 13 febrero 2025
Aceptado para publicación: 19 marzo 2025*



INTRODUCCIÓN

Epidemiología del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)

La infección por el VIH y el diagnóstico del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) aún constituyen unos de los mayores problemas de salud pública en el mundo. De ahí que su vigilancia epidemiológica y la investigación en VIH sigan teniendo gran prioridad. Según los datos del Programa Conjunto de las Naciones Unidas las nuevas infecciones por VIH ascienden a 1,3 millones en 2022, año en el cual 630.000 personas murieron por causas relacionadas con el VIH, el 13% de las cuales eran niños menores de 15 años (ONU, 2024).

El VIH se transmite principalmente por vía sexual, a través de las mucosas orofaríngea, genital y anal, o por vía parenteral, como transfusiones de sangre contaminada o uso compartido de agujas. Las células clave involucradas en la infección por VIH son los linfocitos T CD4+, los macrófagos y las células dendríticas, que poseen en su superficie receptores CD4 y correceptores CCR5 o CXCR4, dependiendo del tipo de célula. Para que el virus infecte, se requiere que la glicoproteína gp120 del VIH se una al receptor CD4, mientras que la gp41 facilita la fusión viral con la célula. El tipo de correceptor involucrado define qué tipo de células serán infectadas; CXCR4 se encuentra en linfocitos T y CCR5 en macrófagos y monocitos (Cordeiro, 2008).

Una vez que el VIH infecta la célula, se integra en el ADN celular y se replica, produciendo nuevas partículas virales que destruyen las células infectadas. El virus se disemina principalmente a través de los linfocitos CD4+ y macrófagos, diseminándose por los ganglios linfáticos y afectando órganos linfoides como el bazo, amígdalas y adenoides. La disminución en los linfocitos CD4+ es un marcador clave en la progresión hacia el SIDA, con una caída importante en la fase aguda de la infección, lo que debilita el sistema inmunológico del huésped y permite el desarrollo de infecciones oportunistas (Cordeiro, 2008).

El objetivo de la vigilancia es cuantificar la magnitud de la epidemia y definir las características de la población afectada, en particular en relación con las formas de contagio del virus, buscando así grupos o personas vulnerables y desarrollando estrategias de prevención. Los distintos factores sociodemográficos, culturales, económicos y políticos de cada zona determinan la diferente evolución de la epidemia en las distintas áreas geográficas del planeta (Carnicer-Pont, 2010). La importancia de



la investigación que incluye tanto la patogénesis, la epidemiología y la demografía, la prevención y el tratamiento del VIH y de las infecciones concurrentes, nos permite que estas investigaciones se centren en la realización de investigaciones básicas para esclarecer los mecanismos biológicos y moleculares de la transmisión, la replicación y los reservorios del VIH. El conocimiento de las vías celulares y moleculares que intervienen en la enfermedad del VIH puede conducir a nuevas intervenciones preventivas o terapéuticas, entre otros (Díaz- Castrillón, 2020).

Epidemiología de los coronavirus

Por otro lado, los coronavirus son una familia de virus descubiertos en 1960 que tienen una única cadena de ARN de gran tamaño que codifica para las proteínas estructurales, de la envoltura, y de la nucleocápside, así como para otras proteínas no estructurales (Cajamarca-Baron, 2021). Pertenecen a la familia *Coronaviridae*, que a su vez forma parte de una familia más grande, *Nidovirales*. Los géneros *Alpha* y *Betacoronavirus* tienen al murciélago como su huésped natural, los *Gammacoronavirus* a las aves y los *Deltacoronavirus* a los cerdos. Son virus zoonóticos ya que se han reconocido hasta siete tipos con capacidad de infectar a humanos: dos *alfacoronavirus* (229E y NL63) y cinco *betacoronavirus* (OC43, HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-Cov_2) (Cajamarca-Baron, 2021).

Concretamente, el SARS-CoV2 y su enfermedad conocida como COVID-19 emergieron en 2019 como pandemia y hasta el mes de junio de 2024, se han notificado más de 775 millones de casos confirmados y más de siete millones de muertes en todo el mundo desde el comienzo de la pandemia donde su primer caso diagnosticado fue en Wuhan, China (WHO, 2024). Su alta capacidad de contagio, asociada a su elevada letalidad en personas con factores de riesgo, puso la economía mundial en una estrecha balanza entre los aspectos económicos y el ámbito de la salud. Las tasas de infección y transmisión varían según la región, las medidas de control implementadas y la presencia de variantes del virus. Sus principales vías de transmisión son de persona a persona a través de gotículas respiratorias, contacto directo y aerosoles (Díaz-Castrillón, 2020). La infección por SARS-Cov-2 se caracteriza por presentar una amplia gama de síntomas que varían desde asintomáticos o leves gripales hasta graves y críticos, llegando incluso a provocar la muerte. La sintomatología incluye fiebre, tos seca, disnea y fatiga como los síntomas más comunes y leves (81%). Por otro lado, se estima que entre un 10% a 14% de los casos son graves y requieren hospitalización, mientras que aproximadamente un 5% a 6% son críticos,



presentando insuficiencia respiratoria, shock séptico o fallo multiorgánico (Molero-García, 2021). El tiempo en que tardan los pacientes en recuperarse puede variar según los casos leves con alrededor de 10-14 días, mientras que los casos graves o críticos pueden tardar más de 28 días en recuperarse (Molero-García, 2021).

Alteraciones post-COVID

En la investigación sobre las alteraciones post-COVID en pacientes VIH, se ha podido observar que, tres meses después de la infección con SARS-Cov-2, los pacientes muestran una serie de síntomas persistentes entre los cuales se encuentran la disnea, fatiga crónica o problemas neurológicos como dificultad en la concentración o confusión. También se han identificado complicaciones cardiovasculares y metabólicas en comparación con la población general post- COVID (Tesoriero, 2023). Respecto a los aspectos moleculares, se ha visto que, tras el aclaramiento del SARS-CoV-2, se mantienen alterados parámetros como citoquinas proinflamatorias, en particular la interleucina-6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral (TNF). Estas citoquinas, conocidas por su rol en la respuesta inflamatoria aguda, continúan circulando en el organismo de algunos pacientes, lo que sugiere la presencia de un estado inflamatorio crónico subyacente (Wang, 2020). Adicionalmente, se puede observar que marcadores de coagulación se mantienen elevados como el dímero D, la proteína C reactiva (PCR) y la ferritina.

Estos marcadores se pueden asociar con procesos inflamatorios sistémicos y coagulopatías (Wang, 2020). Además, también se ha llegado a observar una linfopenia persistente, provocando una vulnerabilidad a infecciones secundarias a los pacientes (Wang, 2020).

Epidemiología de la coinfección por VIH y SARS-CoV-2

En personas con VIH (PVIH) coinfectadas por SARS-CoV-2 la respuesta inmune, evolución y pronóstico son muy variables y/o subjetivos de acuerdo con el tratamiento antirretroviral (ART) instaurado, tiempo de evolución con relación al diagnóstico y la supresión viral.

Los pacientes con VIH sin tratamiento, con diagnóstico reciente o que no alcanzan la supresión viral pueden tener un sistema inmunitario comprometido (recuento de CD4 > 500 cel/mm³), siendo incluso no solo vulnerables a los peores desenlaces por el SARV-CoV-2, sino en la presunta coinfección por otros agentes oportunistas en el pulmón u otros sistemas orgánicos. Por otro lado, hay estudios que



demuestran que las PVIH que han logrado la supresión viral y que cuentan con un recuento de linfocitos CD4 similar a la población general, se verán afectadas por el SARS-CoV-2 con el mismo pronóstico que las personas inmunocompetentes que desarrollan manifestaciones leves (Cajamarca-Baron, 2021).

Sin embargo, hay numerosas consideraciones que deben tenerse en cuenta. Aunque el ART reduzca significativamente la activación y agotamiento inmune, estos parámetros siguen estando más elevados que en las personas sin VIH (PSVIH) (Bourgi, 2021). Esto se traduce en una mayor incidencia de otras comorbilidades no definitorias de SIDA, entre las cuales encontramos complicaciones cardiovasculares, metabólicas, hepáticas, renales o neoplásicas (Bourgi, 2021). De la misma forma, se han demostrado interacciones medicamentosas entre los tratamientos frente a ambas infecciones (Services., 2024)

Por todo esto comentado anteriormente, la coinfección por el SARS-CoV-2 requiere un enfoque multidisciplinario y personalizado. Es esencial considerar no solo el estado virológico e inmunológico del paciente sino el contexto sanitario de cada PVIH.

miRNAs y su importancia en infecciones virales

Los micro ARNs o miRNAs están siendo investigados por su potencial como biomarcadores en infecciones virales debido a su capacidad para regular la expresión genética y las respuestas inmunitarias. Los miRNAs son moléculas pequeñas de ARN de entre 17 a 25 nucleótidos no codificante que modulan postranscripcionalmente multitud de genes y procesos celulares al interactuar con los ARN mensajeros (ARNm) (Lu, 2018), desempeñando un papel crucial tanto en la progresión de la enfermedad como en la respuesta del huésped a las infecciones virales. Los miRNAs pueden degradar o bloquear el ARNm uniéndose a su extremo 3' o mediante la caperuza 5' y la cola poli-A; además, también son capaces de unirse a promotores genéticos y estimular la expresión del ARNm (Huntzinger, 2011) (Lee, 2009).

Se ha observado que los miRNAs se expresan de manera diferencial en respuesta a infecciones específicas, lo que podría permitir su uso no solo para diagnosticar infecciones sino también para el identificado de perfiles específicos de expresión de miRNAs en pacientes con COVID-19, donde ciertos miRNAs están sobreexpresados o subexpresados en comparación con individuos sanos. Los miRNAs tienen potencial terapéutico en la modulación de la respuesta inmune o directamente interferir con la replicación viral (Ryan J. Farr, 2021). Sin embargo, a pesar de todo esto, se desconoce cómo el SARS-CoV-2 puede afectar a estos perfiles de expresión y las consecuencias que pueden causar en personas con



VIH.

Hipótesis

La infección por SARS-CoV-2 deja una huella en el perfil de expresión de miRNAs plasmáticos de PVIH, que puede detectarse en el plasma del paciente tras meses de la resolución de la infección.

Objetivo General

Identificar miRNAs celulares en el plasma de PVIH, 12 semanas después de la infección por SARS-CoV-2, y determinar si la expresión de miRNAs permanece alterada en comparación con PVIH controles sin infección previa por COVID-19.

Objetivos Específicos

- Cuantificar los niveles de expresión de miRNAs en el plasma de PVIH que se han recuperado de la infección por SARS-CoV-2 y de controles no infectados por SARS-CoV-2 utilizando técnicas de secuenciación masiva y análisis bioinformático.
- Comparar los perfiles de expresión de miRNAs entre PVIH recuperados de COVID-19 y PVIH controles no infectados por SARS-CoV-2 mediante normalización, análisis de expresión diferencial y ajuste por comparaciones múltiples.
- Identificar una lista de miRNAs candidatos a ser responsables de la huella que deja la infección por SARS-CoV-2 mediante una estrategia robusta de filtrado por fold-change.

MATERIALES Y MÉTODOS

A continuación, se describen paso a paso los materiales y métodos usados para analizar los miRNAs del proyecto VIH vs VIH-SARS.

Diseño del estudio

Se realizó un estudio transversal, retrospectivo y multicéntrico en el que participaron 12 hospitales de todo el territorio español. Se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki; todos los pacientes dieron su consentimiento por escrito antes de la inclusión. El Comité de Ética del Hospital General Universitario Gregorio Marañón aprobó el estudio (ref. interna 162/20) así como el Instituto de Salud Carlos III (CEI PI 18_2021).



Se definieron dos grupos de estudio estratificados según el estado de infección por SARS-CoV-2:

- a) **Pacientes o Grupo VIH/SARS:** Se conforma de 20 PVIH con diagnóstico SARS-CoV2 positivo mediante PCR durante 4 semanas o más.
- b) **Control Negativo o Grupo VIH:** Se conforma de 18 PVIH sin infección previa.

Ningún paciente había sido vacunado contra el SARS-CoV-2 previamente a la toma de la muestra. Las muestras del grupo VIH se seleccionaron de la colección con número de acceso C.0003796 (*Biobanco del Instituto de Salud Carlos III*) mientras que el plasma del grupo VIH/SARS se seleccionó de la Cohorte CORiS ubicada en el Biobanco VIH (Hospital General Universitario Gregorio Marañón).

Los criterios de inclusión para todos los participantes en este estudio fueron: ser mayor de 18 años y haber estado bajo tratamiento antirretroviral (TAR) exitoso durante al menos 1 año con viremia indetectable. Los criterios de exclusión fueron el embarazo, la presencia de antígenos o anticuerpos contra los virus de la hepatitis B y C, las infecciones oportunistas, las neoplasias y las enfermedades cardiovasculares o autoinmunes. Las variables clínicas y epidemiológicas se recogieron de sus respectivas historias clínicas.

Muestra biológica

Se recogieron 30 mL de sangre periférica en tubos con EDTA como anticoagulante. Para evitar la degradación del ARN, la muestra se preparó en las cuatro primeras horas tras la extracción. El plasma se obtuvo mediante centrifugación en gradiente de densidad utilizando *Lymphoprep™* y se almacenó a -80 °C hasta su uso. La extracción del ARN total enriquecido en miRNAs se llevó a cabo a partir del plasma utilizando el kit miRNeasy Serum/Plasma Advanced (Qiagen®, Alemania). Las muestras fueron extraídas por duplicado utilizando el máximo volumen permitido por el kit (600 µl) con el objetivo de obtener un mayor rendimiento de miRNAs para la secuenciación. La cantidad y calidad de los ARN fueron analizadas mediante el sistema Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Estados Unidos) utilizando Chips Pico de ARN 6000 de Agilent (Agilent Technologies, Estados Unidos).

Librerías de ARN y secuenciación

La preparación de las bibliotecas de secuenciación de ARN corto y la secuenciación masiva se llevó a cabo en el Centro de Investigación Cooperativa en Biociencias (CIC bioGUNE) del Parque Científico y Tecnológico de Vizcaya, España. Estas librerías se construyeron utilizando el kit «NEXTflex™ Small



RNA Sequencing Kit v4 with Unique Dual Indices (UDIs)» (©Bioo Scientific Corp., USA) y siguiendo las instrucciones del fabricante utilizando entre 0,1 y 4,7 nanogramos (ng) de ARN total como material de partida.

Las bibliotecas se visualizaron en un bioanalizador Agilent 2100 (Agilent Technologies, Estados Unidos) y se cuantificaron utilizando el kit Qubit sDNA HS DNA (Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos).

La secuenciación se realizó con el secuenciador de alto rendimiento Illumina HiScan-SQ (Illumina, Estados Unidos), en forma de lecturas 100x2 de extremos emparejados. Cada muestra incluía un índice único, para su posterior demultiplexación. La biblioteca se secuenció con 20 millones de lecturas de fragmentos por muestra.

Tratamiento de datos

Análisis descriptivo de la muestra

Para describir las características clínico-epidemiológicas de nuestra población de estudio se utilizó el paquete *tableone* en R. Se definieron las variables numéricas y categóricas de interés, y se generó una tabla resumen de las características de la muestra estratificada por grupo de estudio (VIH vs VIH/SARS) con la función *CreateTableOne()*. Finalmente, se aplicó un formateo personalizado a las variables categóricas, para mostrar el número de eventos positivos respecto del total de participantes y su respectivo porcentaje, mejorando así la presentación de los resultados y evitando la modificación manual posterior.

Flujo de trabajo bioinformático

Los adaptadores de las secuencias se recortaron con cutadapt (v.4.0), mientras que el control de calidad se realizó con FastQC (v.0.11.9-Java-11) después y antes de recortar los adaptadores. Se utilizó el software mirDeep2 para identificar y cuantificar las secuencias de miRNAs.

Normalización de datos de miRNAs

Una vez procesadas las secuencias crudas obtenidas del servicio de secuenciación, obtenemos una matriz de conteos de miRNAs que debe pasar por un filtrado y una normalización. Específicamente, en este proceso se eliminan miRNAs duplicados que tienen diferentes precursores o cuya expresión es insuficiente, así como se reducen las diferencias por la profundidad de secuenciación, considerando el

grupo al que pertenece cada muestra y la expresión generalizada de cada miRNAs.

Cada miRNAs maduro puede originarse desde varios precursores diferentes. Para evitar la presencia de duplicados, el paso inicial fue hacer un filtrado para seleccionar los miRNAs maduros que presentaran un mayor conteo en cada muestra con la función *ddply()* del paquete *plyr*. Con estas secuencias, se seguirá una serie de pasos de normalización y análisis. Para facilitar el análisis diferencial de expresión, se creó un objeto *DGEList* con el paquete *edgeR*, que contiene los conteos de miRNAs y la información de los grupos. Luego, se aplicó un filtrado de baja expresión para eliminar los miRNAs que no llegaran a 10 lecturas en al menos el 70% de las muestras, utilizando la función *filterByExpr()* de *edgeR*. Posteriormente, se implementó el método de normalización TMM (Trimmed Mean of M-values). Para ello, se calcularon los factores de normalización mediante la función *calcNormFactors()* para ajustar las diferencias en la profundidad de secuenciación entre las muestras. Los conteos normalizados se transformaron a CPM (counts per million) utilizando la función *cpm()*, tanto en escala lineal como logarítmica.

Como salida de las dos llamadas a dicha función se obtiene, por un lado, una matriz de CPM en escala lineal, donde cada celda representa el número de lecturas del miRNAs por millón de lecturas totales en la muestra correspondiente. Con ella se compara la expresión de miRNAs entre muestras con diferentes profundidades de secuenciación. Esta matriz será la que se utilice para los subsiguientes análisis de identificación de miRNAs diferencialmente expresados entre los grupos de estudio y la generación de perfiles de expresión de miRNAs característicos de cada condición (VIH respecto a VIH/SARS).

Luego, se genera otra matriz de CPM en escala logarítmica (log-CPM), que facilita la visualización gráfica. Ambas matrices contienen los mismos miRNAs en las filas y las muestras en las columnas, pero difieren en la escala. Para evaluar el efecto de la normalización, se realiza un gráfico de caja y bigotes con *ggplot2* que muestra la distribución de los valores de LogCPM antes y después de la normalización para cada muestra.

Análisis de componentes principales (PCA)

Se realizó un PCA para reducir la dimensionalidad de los datos de expresión de miRNAs y explorar los datos en busca de posibles agrupaciones según al SARS COV-2 y búsqueda de potenciales datos atípicos. El análisis de componentes principales (PCA) se logró a partir de la función *prcomp()* de R



sobre los datos de expresión de miRNAs normalizados y transformados logarítmicamente. Se utilizó la librería *ggplot2* para la visualización y se ofreció la información del grupo de exposición al SARS-CoV-2. Este análisis permite visualizar la variabilidad entre las muestras y evaluar si existe una separación clara entre los grupos de estudio basada en los perfiles de expresión de miRNAs

Análisis de expresión diferencial

Para el análisis de expresión diferencial, se aplicó un enfoque basado en modelos lineales generalizados (GLM) con el paquete *edgeR*.

En primera instancia, se creó una matriz de diseño con la función *model.matrix()*, paso en el que se especifica los grupos experimentales (VIH y VIH/SARS) como variables explicativas. Luego, se estimó la dispersión de los datos con la función *estimateDisp()*.

El ajuste del modelo GLM se hizo mediante la función *glmFit()*, que aplica un modelo de regresión binomial negativa a los datos de conteo normalizados. Este modelo tiene en cuenta tanto la variabilidad técnica como la biológica inherente a los experimentos de secuenciación.

Para identificar las diferencias en términos de miRNAs entre los grupos, se usó la función *glmLRT()*. Con este test se compara el modelo completo con un modelo reducido y se evalúa la significancia estadística de las diferencias de expresión entre los grupos de estudio. Los resultados se obtuvieron con la función *topTags()*, que genera una tabla ordenada de los miRNAs según su significancia estadística. Esta tabla incluye información crucial como el log-fold change (logFC), que cuantifica la magnitud del cambio en la expresión, el log-counts per million (logCPM), el estadístico de razón de verosimilitud (LR), el p-valor, y el p-valor ajustado (FDR) que controla la tasa de falsos descubrimientos en el contexto de pruebas múltiples y que se ha establecido en $FDR < 0.05$ para determinar los resultados significativos.

Análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA)

El PLS-DA se realizó con la función *plsda()* del paquete *mixOmics*. Para este análisis, se usaron los datos de expresión normalizados y transformados logarítmicamente. Se especificó el vector de grupos (VIH y VIH/SARS) como variable de respuesta, y se estableció en dos el número de componentes a calcular para facilitar la visualización bidimensional. En cuanto a la visualización de los resultados del PLS-DA, esta se generó con la función *plotIndiv()* del paquete *mixOmics*.



Gráfico de volcán

El gráfico de volcán se generó a partir de los resultados del análisis de expresión diferencial. Para su creación, se usaron los resultados del test de razón de verosimilitud (LRT) sin establecer un límite en el número de genes para incluir todos los miRNAs analizados. Para cada miRNAs, se calculó el log2 del fold change (log2FC), que representa la magnitud del cambio en la expresión entre los grupos, y el $-\log_{10}$ del p-valor, que indica la significancia estadística del cambio. Estos valores se usaron para crear un gráfico de dispersión con ggplot2, donde el log2FC se representó en el eje X y el $-\log_{10}(\text{p-valor})$ en el eje Y. Para facilitar la interpretación, se añadieron líneas de referencia: una línea horizontal en $-\log_{10}(0.05)$ para indicar el umbral de significancia estadística ($p < 0.05$), y dos líneas verticales en -1 y 1 para señalar un cambio de expresión de dos veces (fold change de 2 en escala lineal).

RESULTADOS

Población de estudio

Las características clínicas y demográficas de la población de estudio se muestran junto a las principales variables descriptivas de los participantes (**Tabla 1**), estratificadas por grupo de estudio (VIH vs VIH/SARS). Se observa que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos VIH y VIH/SARS para ninguna de las variables. No obstante, se observan algunas tendencias clínicas, como que los pacientes VIH/SARS tienden a ser mayores (46.41 vs 40 años) y a tener un IMC ligeramente más elevado (25.88 vs 24.32). Además, también hay ligeras variaciones en los tratamientos, con más pacientes VIH recibiendo tratamiento II (63.2% vs 42.1%) y más pacientes VIH/SARS recibiendo ITINAN (42.1% vs 26.3%).



Tabla 1. Características clínicas de los 38 pacientes estudiados, estratificados según su exposición al SARS-CoV-2.

Características Clínicas	VIH	VIH/SARS	p
Tamaño muestral	18	20	
Edad (median [IQR])	40.00 [35.25, 49.25]	46.41 [40.96, 50.45]	0.137
IMC (median [IQR])	24.32 [22.73, 25.12]	25.88 [24.54, 27.85]	0.110
Sample.sex = Mujer (%)	4 (20.0)	4 (20.0)	1.000
tto (%)			0.429
II	12 (63.2)	8 (42.1)	
IP	2 (10.5)	3 (15.8)	
ITINAN	5 (26.3)	8 (42.1)	

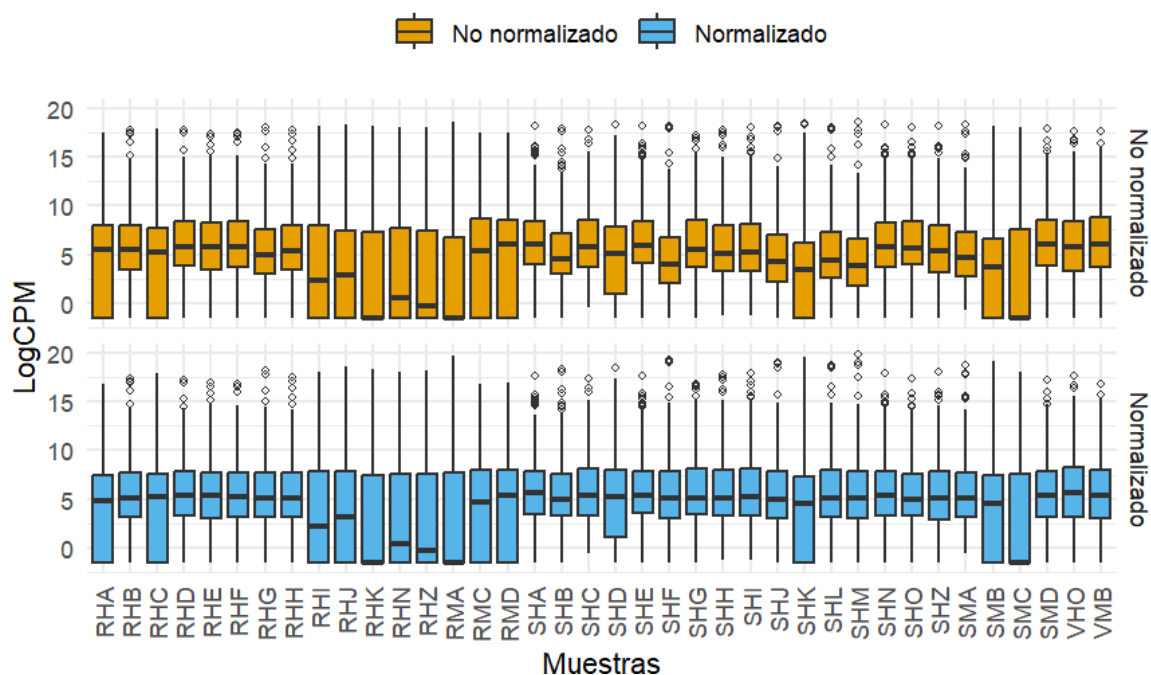
Estadística: Se presentan los valores de las medianas muestrales para las características clínicas continuas, y porcentajes para las categóricas. Los valores p, por su parte, indican la significancia estadística de las diferencias entre grupos. La inferencia estadística se realizó con el Test exacto de Fisher para las variables categóricas y con la prueba de Wilcoxon para las continuas.

Abreviaturas: VIH – Virus de Inmunodeficiencia humana, SARS – Síndrome Respiratorio Agudo Severo, IMC – Índice de Masa Corporal

Normalización de la expresión de miRNAs

Se muestra la distribución de los valores de LogCPM antes y después de la normalización para cada muestra (**Figura 1**). Se inicia con una matriz de conteos de 2880 miRNAs para 38 muestras. Tras el proceso de filtrado y normalización se obtienen 399 miRNAs para el total de muestras analizadas. La comparación mediante boxplots permite observar una alineación más uniforme de las medianas entre las muestras, indicada por las cajas azules, en contraste con la mayor variabilidad de las cajas amarillas de los datos no normalizados. Se utilizó la normalización de factores basada en TMM junto a un filtro para eliminar miRNAs con menos de 10 lecturas.

Figura 1 Detalle de la distribución de los valores de LogCPM antes y después de la normalización.
Efecto de la normalización sobre LogCPM

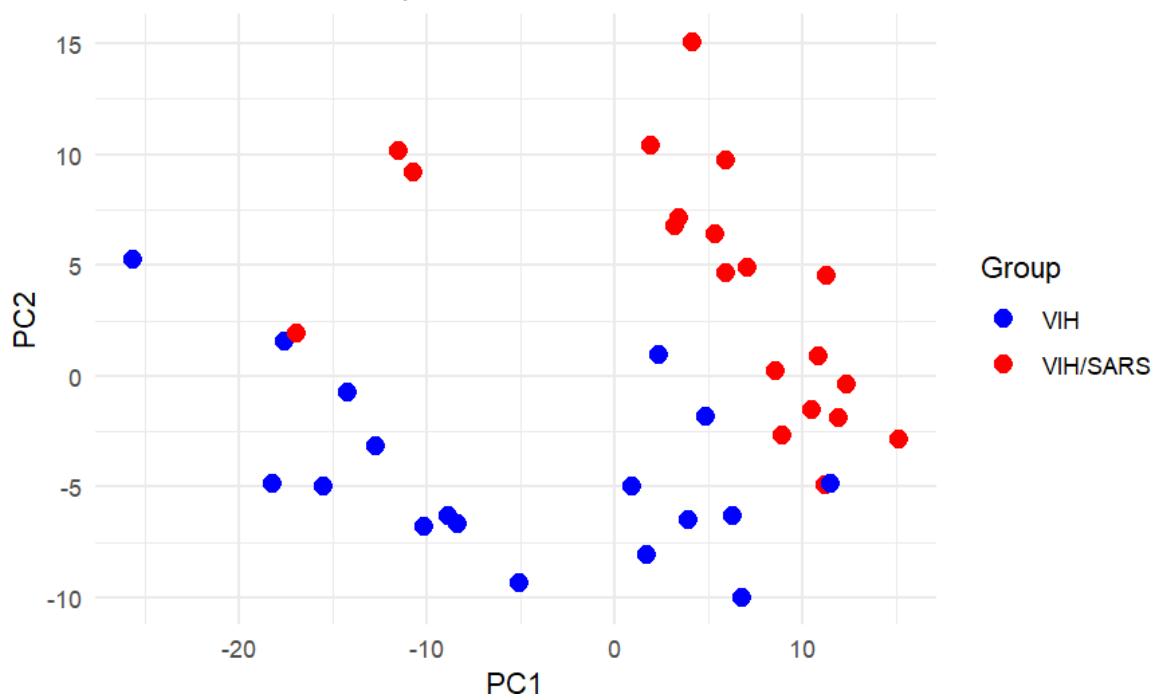


PCA

El PCA se muestra en la **Figura 2**. Este análisis no supervisado agrupa las variables en dimensiones calculadas teóricamente que disminuyen la dimensionalidad y permiten representar la varianza global. Así, permite visualizar la variabilidad entre las muestras y evaluar si existe una separación clara entre los grupos de estudio basada en los perfiles de expresión de miRNAs. La disposición de los puntos en el espacio bidimensional definido por los primeros dos componentes brinda información sobre las similitudes y diferencias en los patrones de expresión entre las muestras y los grupos. El PCA sugiere una tendencia a la agrupación natural entre los valores de las categorías “VIH” y “VIH/SARS”, pero es necesario confirmar con una prueba que permita discriminar entre las clases propuestas y aquellas propias a los datos.

Figura 2 | Representación visual de un análisis de componentes principales (PCA). En esta representación, cada punto corresponde al perfil de expresión de un paciente en referencia a las dos dimensiones del análisis, y los colores se utilizaron para diferenciar los grupos de estudio.

PCA de datos de expresión de miARN



PLS-DA

En cuanto a la visualización de los resultados del PLS-DA (**Figura 3**), este gráfico representa las muestras en el espacio definido por las dos primeras componentes del PLS-DA mediante la puntuación de Importancia de la Variable en la Proyección (VIP). El análisis supervisado y discriminante maximiza la variabilidad entre muestras y nos permite evaluar visualmente la separación entre los grupos de estudio basada en sus perfiles de expresión de miRNAs, que, en este caso, es claramente diferenciable. Este análisis permite establecer una clara distinción entre los datos de expresión del grupo “VIH” respecto a aquellos del grupo “VIH/SARS” que explica hasta el 40% de la varianza global por su cuenta.

[illegible]

Tabla 2 Matriz ordenada con los 8 miRNAs con mayor aportación a la Importancia de la Variable en la Proyección (VIP) del modelo PLS-DA en cualquiera de sus dos componentes principales (CP).

miRNA	VIP CP1	VIP CP2
hsa-miR-548ap-3p	2,24	2,03
hsa-miR-150-3p	2,17	1,86
hsa-let-7i-5p	2,09	1,86
hsa-miR-25-3p	2,02	1,92
hsa-miR-374c-3p	1,88	2,05
hsa-miR-193a-5p	2,11	1,82
hsa-miR-374b-5p	1,88	2,05
hsa-miR-548ay-5p	2,01	1,68

Expresión diferencial

Se realizó un análisis de expresión diferencial con edgeR con el objetivo de comparar grupos de muestras y encontrar miRNAs cuya expresión cambia significativamente entre la condición de infección con SARS-CoV-2 con respecto al grupo VIH y reportar la tasa FDR, que es la proporción esperada de falsos positivos entre los miRNAs que se identifican como significativos. El análisis fue realizado usando un modelo lineal generalizado (GLM) con una matriz de diseño basada en los grupos de interés y una distribución binomial negativa. Se identificó un conjunto de 41 miRNAs que presentan alteraciones en sus niveles de expresión ($FDR < 0.05$, $p\text{-value} < 0.001$), cuyos valores absolutos mínimos y máximos de logFC oscilan entre 1.22 y 4.87. Se presentan los primeros 20 en la **Tabla 3** y el conjunto completo en el **Anexo B**. De los 41 miRNAs, obtuvimos 29 sobreexpresados ($\text{LogFC} > 0.05$) y 12 infraexpresados ($\text{LogFC} < 0.05$) en el grupo VIH/SARS respecto al grupo control VIH.

Estas observaciones sugieren la presencia de un conjunto de miRNAs diferencialmente expresados entre los grupos de VIH y VIH/SARS. Se muestran aquellos con cambios significativos en la expresión ($p < 0.001$) (**Anexo B**).



Tabla 3. | Resultados del análisis de expresión diferencial para los primeros 20 miRNAs entre grupos de pacientes VIH y VIH/SARS.

miRNAs	logFC	logCPM	LR	p-value	FDR
hsa-miR-25-3p	1.35	12.4	28.7	<0.001	<0.001
hsa-miR-548ap-3p	4.87	1.58	28.5	<0.001	<0.001
hsa-miR-27a-3p	1.75	13.0	26.9	<0.001	<0.001
hsa-miR-18b-5p	-3.86	5.67	23.4	<0.001	<0.001
hsa-let-7a-5p	1.22	11.97	23.2	<0.001	<0.001
hsa-miR-3613-3p	-3.36	3.77	20.6	<0.001	<0.001
hsa-miR-374c-3p	-1.27	9.53	19.5	<0.001	<0.001
hsa-let-7b-5p	1.28	10.4	19.3	<0.001	<0.001
hsa-miR-374b-5p	-1.26	9.52	19.3	<0.001	<0.001
hsa-miR-30c-5p	1.35	8.64	19.2	<0.001	<0.001
hsa-miR-143-3p	1.59	9.26	17.8	<0.001	0.001
hsa-miR-197-3p	-1.12	10.0	17.8	<0.001	0.001
hsa-let-7i-5p	0.90	10.2	16.7	<0.001	0.001
hsa-miR-145-5p	1.13	10.0	15.7	<0.001	0.002
hsa-let-7g-5p	0.92	10.0	13.9	<0.001	0.005
hsa-miR-16-5p	0.92	17.9	13.8	<0.001	0.005
hsa-miR-424-5p	1.82	8.43	13.5	<0.001	0.005
hsa-miR-150-3p	3.47	2.71	12.9	<0.001	0.007
hsa-miR-342-3p	-0.77	11.9	12.5	<0.001	0.009
hsa-miR-642a-3p	3.52	2.53	12.2	<0.001	0.009

Abreviaturas: FDR – Tasa de Falsos Positivos, logFC – logaritmo de la tasa de razón de cambio, LR – razón de verosimilitud.

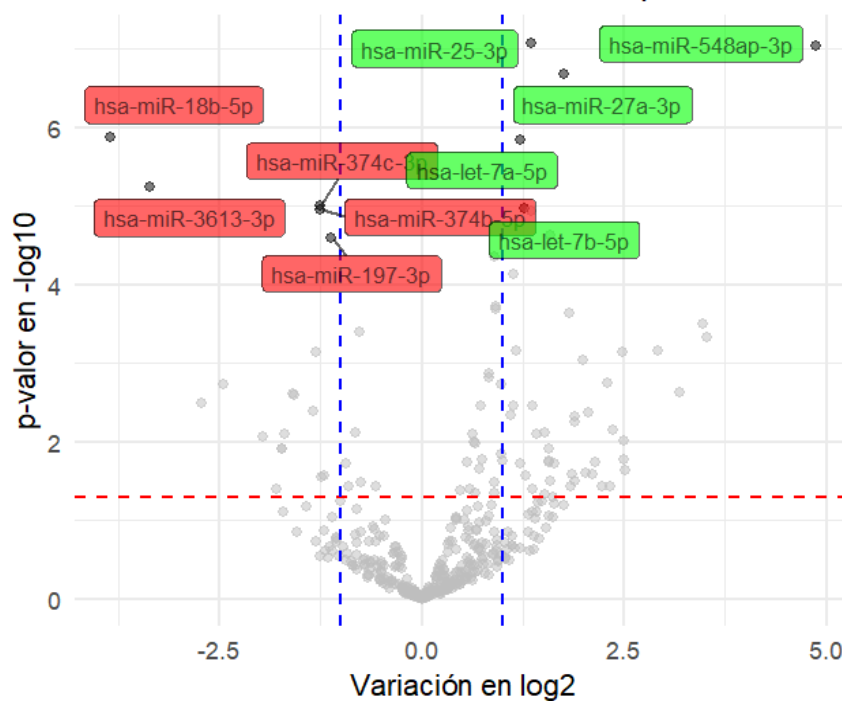
Gráfico de volcán

El gráfico de volcán (**Figura 4**) se generó a partir de los resultados del análisis de expresión diferencial realizado con edgeR. Este análisis facilita la visualización de la separación de los miRNAs de acuerdo con la significancia estadística sobre el nivel de expresión génica. Permite de forma rápida y visual identificar aquellos miRNAs, que se ubican en las regiones superiores derecha (sobreexpresados) e izquierda (infraexpresados) en el grupo VIH/SARS con respecto al grupo VIH con la mayor razón de cambio en la expresión génica y significancia estadística.



Figura 4 | Gráfico de volcán que muestra miRNAs expresados significativamente de forma diferencial entre pacientes con VIH y VIH/SARS. Cada punto representa un miRNA individual. Aquellos en la esquina superior izquierda son los que muestran una disminución significativa en la expresión (subexpresados, en rojo) en el grupo VIH/SARS comparado con el grupo VIH, y los de la esquina superior derecha son los que muestran un aumento significativo en la expresión (sobreexpresados, en verde).

Gráfico de volcán de los datos de expresión de miARN



Para facilitar la interpretación, se añadieron líneas de referencia y etiquetas: una línea horizontal en $-\log_{10}(0.05)$ para indicar el umbral de significancia estadística ($p < 0.05$), y dos líneas verticales en -1 y 1 para señalar un cambio de expresión de dos veces (fold change de 2 en escala lineal). El eje X representa el log2 del cambio en la expresión (log2FC), mientras que el eje Y muestra la significancia estadística como $-\log_{10}$ del p-valor. Las líneas punteadas rojas horizontales y azules verticales indican los umbrales de significancia estadística y de cambio en la expresión, respectivamente.

DISCUSIÓN

Este estudio ha permitido identificar perfiles específicos de expresión de miRNAs en plasma de PVIH que se han recuperado de una infección por SARS-CoV-2, en comparación con PVIH sin antecedentes de la infección. Los resultados obtenidos a través de técnicas de secuenciación de última generación y análisis bioinformático robusto revelan patrones de expresión diferencial de miRNAs que podrían tener implicaciones significativas en la comprensión de la respuesta inmunológica y las posibles

complicaciones a largo plazo en esta población.

La comparación entre grupos de estudio indica muy poca variación entre los datos clínicos y demográficos de los participantes. Por tanto, se considera que son grupos experimentales comparables entre sí y, por tanto, cuyas propiedades específicas como el estado de sus biomarcadores moleculares se debe al estado de exposición frente al SARS-CoV-2 y no por otras variables clínicas.

Al homogeneizarse mediante normalización, los niveles de expresión permiten corregir, al menos de forma parcial, los sesgos técnicos, permitiendo una comparación más fiable entre muestras. Además, la normalización ajusta el rango de expresión de los miRNAs, como se evidencia en la menor variación en el tamaño de los boxplot (**Figura 1**) y una distribución más consistente de los valores extremos.

El PCA, aun tratándose de un análisis no supervisado, es decir, sin información del diseño de grupo durante la fase de parametrización, mostró una clara separación entre los grupos de estudio, lo que indica que la infección por SARS-CoV-2 induce cambios sustanciales en el perfil de miRNAs circulantes en PVIH, incluso después de la recuperación clínica. Esta observación respalda la hipótesis de que la COVID-19 puede tener efectos duraderos en la regulación génica mediada por miRNAs en el contexto de la infección por VIH y que podría ser esta la causante de aquellas comorbilidades post-COVID. Ya se ha descrito previamente la utilización del PCA con este objetivo, analizando los perfiles de expresión génica en pacientes con una infección por SARS-CoV-2. Este método les permitió obtener 123 genes críticos en la progresión de la enfermedad al reducir la gran cantidad de datos y seleccionar componentes principales que separan a los pacientes infectados de los controles sanos (Fujisawa, 2021).

El PLS-DA, un análisis supervisado y cuyo objetivo es maximizar las diferencias de grupos, refuerza estos hallazgos que remarcan la profunda desregulación post- infección que causa el SARS-CoV-2. Además, el PLS-DA permite establecer un rango de importancia de cada miRNA de acuerdo con la variabilidad aportada al modelo. Así, representa una herramienta adicional para la identificación de miRNAs clave en la distinción entre los estados de VIH y VIH/SARS, ya que nos permite identificar aquellos miRNAs que aportan una mayor variabilidad en el perfil de expresión mediante la extracción del puntaje VIP, subrayándolos como potenciales objetos de estudio.

De esta forma, los dos miRNA con mayor aportación a la variabilidad de los datos son hsa-miR-548ap-3p y hsa-miR-150-3p. Se ha podido observar que el miRNA hsa-miR-548ap-3p juega un papel



importante en el cáncer colorrectal, ya que el mecanismo del hsa-miR-548ap-3p interfiere con la expresión de IRF6, promoviendo un microambiente tumoral favorable para el cáncer colorrectal. Los niveles reducidos de IRF6, debido a la acción de hsa-miR-548ap-3p, estarían relacionados con una peor supervivencia y una mayor agresividad del cáncer (Tong, 2024). Por otro lado, en un estudio de leucemia linfocítica crónica, se observó que niveles elevados de hsa-miR-150-5p estaban asociados con un mayor riesgo de desarrollar dicha enfermedad. Esta asociación sugiere que hsa-miR-150-5p podría actuar como un biomarcador temprano para identificar individuos en riesgo leucemia linfocítica crónica (Casabonne, 2020). Además, este miRNA se ha encontrado infraexpresado en el plasma de aquellos pacientes en estado crítico por COVID-19 (Liang, 2023), revelando un posible importante papel en la infección por este virus.

Mediante un análisis de expresión diferencial hemos conseguido identificar hasta 41 miRNAs (Tabla 2) con una tasa de cambio logarítmico (logFC) significativamente diferente sobre el grupo no infectado por el SARS-CoV-2.

Al mostrar los resultados de la significancia en los niveles de expresión se puede identificar visualmente los miRNAs que muestran cambios significativos tanto en magnitud (logFC) como en significancia estadística (p-valor) entre los grupos de estudio. Estos hallazgos indican que ciertos miRNAs podrían ser biomarcadores potenciales de la respuesta a la infección por SARS-CoV-2 en PVIH, o incluso estar implicados en los mecanismos moleculares de las complicaciones post-COVID.

Los miRNAs hsa-miR-25-3p y hsa-miR-18b-5p tienen el mayor nivel de sobreexpresión y subexpresión entre las secuencias analizadas. hsa-miR-25-3p ha sido asociado a roles importantes en procesos biológicos metabólicos y transcripcionales (Zhang, y otros, 2018). Además, se sabe que su subexpresión inhibe la proliferación y promueve procesos apoptóticos en células con mieloma (Zi, 2021). Se ha descrito que los miRNAs hsa-miR-25-3p y hsa-miR-18b-5p lograron diferenciar a los pacientes con cáncer de próstata de los que presentaban hiperplasia prostática benigna, ambos con niveles alterados de PSA (>3 ng/mL). Ambos mostraron la mayor sensibilidad y especificidad para predecir el cáncer de próstata (Cochetti, 2016). La combinación de estos dos miRNAs mejoró la sensibilidad general. Por otro lado, están implicados en la regulación de respuestas inmunológicas y vías inflamatorias en pacientes post-COVID. Estos miRNAs se encuentran alterados en pacientes con COVID, juegan roles clave en la



modulación de la inmunidad innata y adaptativa, afectando vías inflamatorias críticas durante la fase aguda y post-COVID. Concretamente, se han encontrado elevados en pacientes con COVID severo y post-COVID, lo que sugiere su implicación en la persistencia de la inflamación y el desarrollo de secuelas como COVID prolongado. Su relevancia como biomarcadores reside en su capacidad para predecir complicaciones y orientar estrategias terapéuticas personalizadas (Giannella, 2022).

Por su lado, se ha comprobado que la subexpresión miRNAs hsa-miR-18b-5p puede favorecer a los macrófagos humanos al promover una respuesta inflamatoria durante un proceso infeccioso (Zhu T, 2021). Estas células inmunitarias desempeñan papeles fundamentales tanto en la respuesta inflamatoria como en la reparación tisular. Sin embargo, su disfunción durante y después de la infección por SARS-CoV-2 puede agravar la enfermedad aguda y contribuir al desarrollo de síntomas crónicos. Un aspecto importante es que diferentes tipos de macrófagos desempeñan funciones específicas según su localización. Mientras los macrófagos alveolares contribuyen a la reparación pulmonar, los monocitos circulantes que migran a los pulmones durante la infección tienden a favorecer una respuesta inflamatoria más aguda y destructiva. Esta dualidad es crítica en la evolución de los desenlaces, ya que un exceso de macrófagos inflamatorios puede aumentar la probabilidad de fibrosis y coagulopatías (Mohandas S, 2023).

Por tanto, se plantea la hipótesis que su sobreexpresión en pacientes VIH/SARS permite potenciar el efecto inmunodepresivo mediante la desaparición de macrófagos, de forma que el huésped quede vulnerable a reinfecciones.

Por otro lado, y ante la basta capacidad funcional de los miRNAs, se recomienda hacer más estudios sobre la relación entre la función específica y el mecanismo que siguen los miRNAs identificados en este estudio. Se propone un análisis funcional con GO/KEGG, análisis de redes de interacción y mapeos a regiones genómicas para asociar características funcionales o estructurales.

Sin embargo, este estudio también tiene limitaciones. El tamaño muestral relativamente pequeño podría limitar la generalización de los resultados, sin embargo, ha sido suficiente para la identificación visual y estadística de un set de miRNAs expresados diferencialmente entre ambos grupos. También, al ser un estudio transversal, no permite establecer relaciones causales o predictivas ni evaluar la evolución temporal de los cambios en la expresión de miRNAs. Futuros estudios longitudinales con cohortes más



grandes serán necesarios para validar estos hallazgos y explorar su relevancia clínica a largo plazo.

Con todo esto expuesto, podemos asegurar que el presente estudio sienta las bases para futuras investigaciones sobre los mecanismos moleculares de las complicaciones post-COVID en PVIH, abriendo nuevas vías para el desarrollo de herramientas diagnósticas y terapéuticas en esta población vulnerable.

CONCLUSIÓN

La infección por SARS-CoV-2 en personas viviendo con VIH (PVIH) induce cambios duraderos en el perfil de expresión de miRNAs plasmáticos, los cuales persisten incluso después de la recuperación clínica.

Se identificaron 41 miRNAs diferencialmente expresados entre PVIH con y sin antecedentes de COVID-19, que podrían servir como biomarcadores para la estratificación de riesgo y seguimiento de PVIH post-COVID-19.

Los análisis de PCA y PLS-DA demuestran una clara separación entre los grupos de estudio basada en los perfiles de miRNAs, respaldando su potencial como herramienta diagnóstica y pronóstica en PVIH con historial de COVID-19.

Agradecimientos

Primero, deseo agradecer profundamente a mis padres, William González Solano y Rocío Villegas Castillo, y a Johnny Schmidt Rojas por su inquebrantable apoyo y constante motivación durante mi máster en Bioinformática. Su confianza en mí ha sido un pilar esencial en este viaje académico.

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a mis tutores, Sergio Grande y Amanda Fernández, por su invaluable apoyo y orientación a lo largo de este proyecto. Su experiencia y dedicación fueron fundamentales para la culminación exitosa de mi tesis.

Por último, quiero expresar mi agradecimiento a la directora del máster, María Rocío González Soltero, por su constante apoyo y confianza durante todo este proceso del master, su guía y su constante preocupación por el estudiante fueron clave.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bourgi, K. W. (2021). *Inflammation and Metabolic Complications in HIV*. Obtenido de Current HIV/AIDS Reports: <https://doi.org/10.1007/s11904-018-0416-4>



- Cajamarca-Baron, J. G. (2021). SARS-CoV-2 (COVID-19) en pacientes con algún grado de inmunosupresión. *Reumatología Clínica*, 408-419.
- Carnicer-Pont, D. &. (2010). Epidemiología de la infección por virus de la inmunodeficiencia humana. Retraso en el diagnóstico. *Elsevier*.
- Casabonne, D. B. (2020). Serum levels of hsa-miR-16-5p, hsa-miR-29a-3p, hsa-miR-150-5p, hsa-miR-155-5p and hsa-miR-223-3p and subsequent risk of chronic lymphocytic leukemia in the EPIC study. *International journal of cancer*, 1315-1324.
- Cochetti, G. P. (2016). Different levels of serum microRNAs in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia: evaluation of potential diagnostic and prognostic role. *OncoTargets and Therapy*, 7545–7553. Obtenido de <https://doi.org/10.2147/OTT.S119027>
- Cordeiro, N. &. (2008). Retrovirus y VIH. . *Revista higiene y educación.*, 449-476.
- Costiniuk, C. T.-A. (2014). Cell-to-cell transfer of HIV infection: Implications for HIV viral persistence. *Journal of General Virology*.
- Díaz-Castrillón, F. J.-M. (2020). SARS-CoV-2/COVID-19: el virus, la enfermedad y la pandemia. Obtenido de <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2020/05/1096519/covid-19.pdf>
- Fujisawa, K. S.-H. (2021). PCA-based unsupervised feature extraction for gene expression analysis of COVID-19 patients. *Scientific Reports*.
- Giannella, A. R. (2022). Circulating microRNA signatures associated with disease severity and outcome in COVID-19 patients. *Frontiers in Immunology*.
- Huntzinger, E. &. (2011). Argonaute family proteins: Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay. *Reviews Genetics*.
- Lee, I. A. (2009). New class of microRNA targets containing simultaneous 5'-UTR and 3'-UTR interaction sites. *Genome Research*.
- Liang, Y. F. (2023). Circulating microRNAs as emerging regulators of COVID-19. *Theranostics*. Lu, T. X. (2018). MicroRNA. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 1202-1207.
- Mohandas S, J. P. (2023). Immune mechanisms underlying COVID-19 pathology and post- acute sequelae of SARS-CoV-2 infection (PASC). *eLife*. Obtenido de <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10219649/>



- Molero-García, J. M.-I.-P. (2021). Aspectos básicos de la COVID-19 para el manejo. *Elsevier*.
- ONU. (21 de Mayo de 2024). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de Un nuevo informe señala un importante aumento de las infecciones de transmisión sexual, que se enmarca en los desafíos que plantean el VIH y las hepatitis: <https://www.who.int/es/news/item/21-05-2024-new-report-flags-major-increase-in-sexually-transmitted-infections---amidst-challenges-in-hiv-and-hepatitis>
- Ryan J. Farr, C. L. (2021). Altered microRNA expression in COVID-19 patients enables identification of SARS-CoV-2 infection. *PLOS Pathogens*.
- Services., U. D. (28 de Julio de 2024). *HIV and AIDS: The Basics*. . Obtenido de HIVinfo.NIH.gov: <https://hivinfo.nih.gov/es/understanding-hiv/fact-sheets/print/23>
- Tesoriero, J. M. (2023). Long-term sequelae in people with HIV after COVID-19. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 331-340.
- Tong, X. L. (2024). Potentially functional genetic variants in interferon regulatory factor family genes are associated with colorectal cancer survival. *Molecular Carcinogenesis*.
- Wang, J. J. (2020). Cytokine storm and leukocyte changes in mild versus severe SARS-CoV-2 infection: Review of 3939 COVID-19 patients in China and emerging pathogenesis and therapy concepts . *Journal of Leukocyte Biology*, 17-41.
- WHO, W. H. (15 de Julio de 2024). *Actualización epidemiológica COVID-19 – 15 de julio de 2024*. Obtenido de <https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-epidemiological-update-edition-169>
- Yuan, W. a. (2023). Mmu-miR-25-3p promotes macrophage autophagy by targeting DUSP10 to reduce mycobacteria survival. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. doi:10.3389/fcimb.2023.1120570
- Zhang, F., Chen, K., Tao, H., Kang, T., Xiong, Q., Zeng, Q., . . . Chen, M. (2018). miR-25-3p, Positively Regulated by Transcription Factor AP-2 α , Regulates the Metabolism of C2C12 Cells by Targeting Akt1. *Int. J. Mol. Sci*, 773. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms19030773>
- Zhou Z, T. Z. (2022). Follicular Fluid-Derived Exosomal MicroRNA-18b-5p Regulates PTEN-Mediated PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway to Inhibit Polycystic Ovary Syndrome Development. *Mol Neurobiol*, 2520-2531. doi: 10.1007/s12035-021-02714-1. Epub 2022



Jan 29. PMID: 35092573.

Zhu T, L. H. (2021). MicroRNA-18b-5p Downregulation Favors Mycobacterium tuberculosis Clearance in Macrophages via HIF-1 α by Promoting an Inflammatory Response. *ACS Infect Dis*, 800-810. doi:doi: 10.1021/acsinfecdis.0c00650. Epub 2021 Mar 11. PMID: 33705114.

Zi, Y. Z. (2021). Downregulation of microRNA-25-3p inhibits the proliferation and promotes the apoptosis of multiple myeloma cells via targeting the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway. *International Journal of Molecular Medicine*. doi: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2020.4841>



ANEXOS

Anexo A: Lista completa de secuencias miRNAs resultantes del análisis PLSDA de acuerdo a la importancia de la varianza en la proyección.

miRNA	VIPs.comp1	VIPs.comp2	miRNA	VIPs.comp1	VIPs.comp2
hsa-miR-548ap-3p	2,24	2,03	hsa-miR-15a-5p	0,78	0,93
hsa-miR-150-3p	2,17	1,86	hsa-miR-7-1-3p	0,77	0,93
hsa-let-7i-5p	2,09	1,86	hsa-miR-503-5p	0,77	0,92
hsa-miR-25-3p	2,02	1,92	hsa-miR-548am-5p	0,72	0,98
hsa-miR-374c-3p	1,88	2,05	hsa-miR-130a-3p	0,57	1,13
hsa-miR-193a-5p	2,10	1,82	hsa-miR-425-3p	0,76	0,93
hsa-miR-374b-5p	1,87	2,05	hsa-miR-548c-5p	0,70	0,98
hsa-miR-548ay-5p	2,01	1,68	hsa-miR-548o-5p	0,70	0,98
hsa-miR-30c-5p	1,94	1,74	hsa-miR-500a-3p	0,84	0,84
hsa-miR-200b-3p	1,89	1,74	hsa-miR-576-3p	0,88	0,80
hsa-miR-196b-5p	1,97	1,65	hsa-miR-370-3p	0,73	0,94
hsa-miR-548ad-5p	1,94	1,67	hsa-miR-378a-3p	0,85	0,82
hsa-miR-197-3p	1,92	1,63	hsa-miR-3120-5p	0,89	0,76
hsa-miR-548ae-5p	1,92	1,63	hsa-miR-122-3p	0,89	0,76
hsa-miR-642a-3p	1,93	1,62	hsa-miR-411-5p	0,76	0,89
hsa-let-7a-5p	1,87	1,67	hsa-miR-548k	0,72	0,93
hsa-miR-3200-3p	1,88	1,62	hsa-miR-10399-5p	0,86	0,78
hsa-let-7b-5p	1,73	1,74	hsa-miR-548ax	0,86	0,77
hsa-miR-18b-5p	1,69	1,69	hsa-let-7c-5p	0,88	0,75
hsa-miR-144-5p	1,80	1,55	hsa-miR-3177-3p	0,76	0,87
hsa-miR-641	1,82	1,52	hsa-miR-548aj-5p	0,87	0,74
hsa-let-7g-5p	1,77	1,52	hsa-miR-374c-5p	0,73	0,88
hsa-miR-9985	1,77	1,48	hsa-miR-122b-5p	0,86	0,73
hsa-miR-548d-5p	1,76	1,48	hsa-miR-874-3p	0,70	0,89
hsa-miR-342-3p	1,73	1,49	hsa-miR-130b-5p	0,85	0,73
hsa-miR-1294	1,73	1,47	hsa-miR-324-5p	0,70	0,88
hsa-miR-660-5p	1,71	1,43	hsa-miR-10a-5p	0,86	0,72
hsa-miR-374a-5p	1,47	1,67	hsa-miR-30d-5p	0,56	1,02
hsa-miR-30a-5p	1,66	1,46	hsa-miR-432-5p	0,81	0,77
hsa-miR-1285-3p	1,64	1,41	hsa-miR-323a-3p	0,59	0,98
hsa-miR-16-5p	1,53	1,51	hsa-miR-556-5p	0,77	0,80
hsa-miR-25-5p	1,64	1,37	hsa-miR-548e-3p	0,73	0,84
hsa-miR-3944-5p	1,60	1,39	hsa-miR-744-5p	0,80	0,77
hsa-miR-181a-2-3p	1,63	1,36	hsa-miR-380-3p	0,51	1,06
hsa-miR-145-5p	1,61	1,38	hsa-miR-6810-5p	0,76	0,80
hsa-miR-27a-3p	1,61	1,37	hsa-miR-548j-5p	0,55	1,00
hsa-miR-550a-5p	1,61	1,35	hsa-miR-556-3p	0,70	0,85



hsa-miR-642b-5p	1,59	1,34	hsa-miR-221-5p	0,73	0,82
hsa-miR-629-3p	1,59	1,33	hsa-miR-152-3p	0,62	0,91
hsa-miR-548au-5p	1,59	1,33	hsa-miR-222-3p	0,50	1,02
hsa-miR-450a-5p	1,57	1,33	hsa-miR-7977	0,76	0,76
hsa-miR-3613-3p	1,39	1,51	hsa-miR-766-5p	0,61	0,90
hsa-miR-132-3p	1,58	1,32	hsa-miR-324-3p	0,77	0,74
hsa-miR-1249-3p	1,48	1,40	hsa-miR-145-3p	0,79	0,73
hsa-miR-4286	1,56	1,30	hsa-miR-326	0,48	1,03
hsa-miR-629-5p	1,56	1,30	hsa-miR-1260a	0,77	0,73
hsa-miR-30e-5p	1,53	1,30	hsa-miR-331-3p	0,52	0,98
hsa-miR-194-5p	1,40	1,43	hsa-miR-889-3p	0,25	1,23
hsa-miR-505-3p	1,53	1,28	hsa-miR-21-3p	0,52	0,96
hsa-miR-200c-3p	1,28	1,51	hsa-miR-361-5p	0,34	1,12
hsa-miR-23b-3p	1,51	1,26	hsa-miR-30a-3p	0,76	0,70
hsa-miR-125a-5p	1,42	1,35	hsa-miR-337-5p	0,44	1,00
hsa-miR-320d	1,45	1,32	hsa-miR-5010-5p	0,78	0,66
hsa-miR-363-3p	1,37	1,39	hsa-miR-1343-3p	0,77	0,65
hsa-miR-450b-5p	1,49	1,26	hsa-miR-215-5p	0,57	0,85
hsa-miR-627-5p	1,49	1,26	hsa-miR-451a	0,71	0,70
hsa-miR-26b-3p	1,49	1,26	hsa-miR-497-5p	0,69	0,72
hsa-miR-335-5p	1,20	1,53	hsa-let-7f-1-3p	0,63	0,76
hsa-miR-4508	1,44	1,28	hsa-miR-433-3p	0,63	0,75
hsa-miR-550b-2-5p	1,48	1,24	hsa-miR-106b-3p	0,66	0,72
hsa-miR-550a-3-5p	1,47	1,23	hsa-miR-23b-5p	0,66	0,72
hsa-miR-320c	1,42	1,27	hsa-miR-142-3p	0,69	0,69
hsa-miR-1306-3p	1,47	1,22	hsa-miR-3613-5p	0,66	0,72
hsa-miR-32-5p	1,43	1,25	hsa-miR-654-3p	0,27	1,09
hsa-miR-4732-5p	1,46	1,23	hsa-miR-409-3p	0,44	0,91
hsa-miR-3615	1,45	1,22	hsa-miR-374a-3p	0,43	0,93
hsa-miR-29c-5p	1,45	1,21	hsa-miR-664a-5p	0,54	0,81
hsa-miR-769-5p	1,42	1,23	hsa-miR-128-3p	0,71	0,62
hsa-miR-589-5p	1,44	1,22	hsa-miR-98-5p	0,70	0,62
hsa-miR-598-3p	1,42	1,22	hsa-miR-6852-5p	0,66	0,64
hsa-let-7a-3p	1,38	1,22	hsa-miR-30c-1-3p	0,55	0,73
hsa-miR-15b-5p	1,41	1,18	hsa-miR-329-3p	0,54	0,74
hsa-miR-550a-3p	1,40	1,19	hsa-miR-17-3p	0,69	0,60
hsa-miR-941	1,36	1,21	hsa-miR-29c-3p	0,67	0,61
hsa-miR-548q	1,38	1,16	hsa-miR-590-3p	0,40	0,87
hsa-miR-1304-5p	1,32	1,21	hsa-miR-328-3p	0,64	0,63
hsa-miR-542-5p	1,36	1,17	hsa-miR-3184-5p	0,69	0,58
hsa-miR-320b	1,33	1,19	hsa-miR-628-5p	0,48	0,79
hsa-miR-20b-3p	1,36	1,14	hsa-miR-224-5p	0,67	0,59
hsa-miR-376c-3p	1,10	1,39	hsa-miR-940	0,53	0,73
hsa-miR-20b-5p	1,35	1,14	hsa-miR-493-5p	0,19	1,07

hsa-miR-491-5p	1,34	1,13	hsa-miR-103b	0,34	0,90
hsa-miR-3074-3p	1,34	1,12	hsa-miR-423-3p	0,67	0,58
hsa-miR-19b-3p	1,33	1,11	hsa-miR-181a-5p	0,57	0,67
hsa-miR-4659b-5p	1,31	1,13	hsa-miR-146b-5p	0,21	1,03
hsa-miR-320a-3p	1,33	1,11	hsa-miR-376a-3p	0,08	1,15
hsa-miR-758-3p	1,32	1,10	hsa-miR-22-5p	0,61	0,61
hsa-miR-345-5p	1,32	1,11	hsa-miR-103a-3p	0,37	0,85
hsa-miR-3605-5p	1,29	1,13	hsa-miR-382-5p	0,36	0,86
hsa-miR-424-3p	1,30	1,11	hsa-miR-487a-3p	0,27	0,95
hsa-miR-143-3p	1,30	1,10	hsa-miR-199a-5p	0,53	0,67
hsa-miR-548h-3p	1,29	1,11	hsa-miR-339-3p	0,46	0,75
hsa-miR-423-5p	1,11	1,29	hsa-miR-15b-3p	0,63	0,56
hsa-miR-1285-5p	1,28	1,10	hsa-miR-148b-3p	0,56	0,63
hsa-miR-23c	1,28	1,09	hsa-miR-411-3p	0,20	0,99
hsa-miR-3143	1,29	1,08	hsa-miR-150-5p	0,52	0,65
hsa-miR-19a-3p	1,28	1,07	hsa-miR-338-3p	0,37	0,81
hsa-miR-9-3p	1,26	1,10	hsa-miR-495-3p	0,15	1,02
hsa-miR-210-3p	1,27	1,07	hsa-miR-652-3p	0,46	0,70
hsa-miR-4433b-5p	1,07	1,26	hsa-miR-3940-3p	0,58	0,58
hsa-miR-4433a-3p	1,07	1,26	hsa-miR-100-5p	0,61	0,55
hsa-miR-1296-5p	1,25	1,07	hsa-miR-130b-3p	0,50	0,65
hsa-miR-548aq-3p	1,25	1,06	hsa-miR-139-5p	0,48	0,67
hsa-miR-550b-3p	1,26	1,05	hsa-miR-494-3p	0,29	0,85
hsa-miR-29a-3p	1,24	1,06	hsa-miR-671-3p	0,33	0,80
hsa-miR-3074-5p	1,23	1,07	hsa-miR-20a-3p	0,54	0,58
hsa-let-7f-5p	1,23	1,07	hsa-miR-539-5p	0,16	0,95
hsa-miR-182-5p	1,08	1,20	hsa-let-7b-3p	0,45	0,66
hsa-miR-3065-5p	1,15	1,12	hsa-miR-379-3p	0,11	0,99
hsa-miR-628-3p	1,22	1,05	hsa-miR-17-5p	0,32	0,77
hsa-miR-181a-3p	1,13	1,14	hsa-miR-636	0,59	0,50
hsa-miR-532-5p	1,22	1,05	hsa-miR-107	0,56	0,53
hsa-miR-584-5p	1,18	1,08	hsa-miR-369-3p	0,17	0,90
hsa-miR-24-2-5p	1,20	1,07	hsa-miR-1284	0,24	0,83
hsa-miR-1180-3p	1,20	1,05	hsa-miR-376b-3p	0,43	0,64
hsa-miR-548aa	1,22	1,03	hsa-miR-483-3p	0,54	0,52
hsa-miR-4659a-3p	1,22	1,02	hsa-miR-20a-5p	0,44	0,62
hsa-miR-574-5p	1,21	1,03	hsa-miR-96-5p	0,52	0,53
hsa-miR-101-3p	1,21	1,02	hsa-miR-543	0,26	0,79
hsa-miR-26b-5p	0,87	1,36	hsa-miR-374b-3p	0,30	0,75
hsa-miR-424-5p	1,21	1,01	hsa-miR-10b-5p	0,33	0,71
hsa-miR-942-5p	1,16	1,06	hsa-miR-1908-5p	0,56	0,48
hsa-miR-340-3p	1,21	1,01	hsa-miR-106a-5p	0,42	0,61
hsa-let-7d-5p	1,21	1,01	hsa-miR-1271-5p	0,21	0,82
hsa-let-7e-5p	1,20	1,02	hsa-miR-199a-3p	0,16	0,87



hsa-miR-11400	1,07	1,14	hsa-miR-199b-3p	0,15	0,87
hsa-miR-28-3p	1,12	1,08	hsa-miR-485-3p	0,17	0,85
hsa-miR-24-3p	1,14	1,03	hsa-miR-625-3p	0,23	0,78
hsa-miR-335-3p	0,85	1,31	hsa-miR-486-5p	0,31	0,69
hsa-miR-139-3p	1,11	1,06	hsa-miR-486-3p	0,30	0,69
hsa-miR-570-3p	1,18	0,99	hsa-miR-654-5p	0,19	0,78
hsa-miR-27b-3p	1,12	1,02	hsa-miR-501-3p	0,41	0,57
hsa-miR-146a-5p	0,77	1,38	hsa-miR-151a-5p	0,24	0,72
hsa-miR-3184-3p	0,96	1,16	hsa-miR-28-5p	0,31	0,65
hsa-miR-338-5p	1,07	1,06	hsa-miR-656-3p	0,21	0,73
hsa-miR-92b-3p	1,12	0,98	hsa-miR-409-5p	0,30	0,64
hsa-miR-26a-5p	0,77	1,33	hsa-miR-221-3p	0,26	0,68
hsa-miR-454-3p	1,04	1,05	hsa-miR-484	0,51	0,43
hsa-miR-2355-3p	1,01	1,08	hsa-miR-1307-3p	0,01	0,92
hsa-miR-362-5p	1,09	0,99	hsa-miR-5189-5p	0,42	0,51
hsa-miR-223-5p	1,13	0,95	hsa-miR-31-5p	0,48	0,45
hsa-miR-3065-3p	1,03	1,04	hsa-miR-625-5p	0,06	0,85
hsa-miR-27b-5p	1,07	0,99	hsa-miR-652-5p	0,35	0,54
hsa-miR-605-3p	1,02	1,04	hsa-miR-323b-3p	0,11	0,79
hsa-miR-92b-5p	1,10	0,94	hsa-miR-127-3p	0,15	0,73
hsa-miR-224-3p	1,09	0,94	hsa-miR-624-5p	0,47	0,40
hsa-miR-191-3p	1,08	0,95	hsa-miR-421	0,11	0,76
hsa-miR-4659b-3p	1,03	0,99	hsa-miR-4687-5p	0,13	0,73
hsa-miR-2110	1,10	0,92	hsa-miR-183-5p	0,19	0,67
hsa-miR-425-5p	1,07	0,94	hsa-miR-30e-3p	0,01	0,83
hsa-miR-151b	1,02	0,99	hsa-miR-204-5p	0,41	0,44
hsa-miR-151a-3p	0,81	1,18	hsa-miR-3529-3p	0,44	0,39
hsa-miR-1292-5p	1,08	0,90	hsa-miR-485-5p	0,00	0,82
hsa-miR-340-5p	0,68	1,30	hsa-miR-6803-3p	0,44	0,38
hsa-miR-1301-3p	0,97	1,00	hsa-miR-365a-3p	0,44	0,38
hsa-miR-5010-3p	0,99	0,96	hsa-miR-365b-3p	0,44	0,38
hsa-miR-16-2-3p	1,03	0,92	hsa-miR-186-5p	0,18	0,62
hsa-miR-140-3p	1,06	0,89	hsa-miR-191-5p	0,21	0,59
hsa-miR-4659a-5p	0,93	1,01	hsa-miR-214-3p	0,36	0,43
hsa-miR-339-5p	0,98	0,95	hsa-miR-106b-5p	0,42	0,37
hsa-miR-576-5p	1,05	0,88	hsa-miR-502-3p	0,28	0,49
hsa-miR-342-5p	1,04	0,89	hsa-miR-1-3p	0,29	0,48
hsa-miR-192-5p	0,93	0,97	hsa-miR-141-3p	0,38	0,39
hsa-miR-431-5p	0,99	0,89	hsa-miR-487b-3p	0,18	0,57
hsa-miR-126-5p	0,95	0,93	hsa-miR-93-3p	0,32	0,43
hsa-miR-223-3p	0,97	0,90	hsa-miR-885-5p	0,40	0,34
hsa-miR-26a-1-3p	0,89	0,98	hsa-miR-99a-5p	0,38	0,35
hsa-miR-548t-3p	1,01	0,85	hsa-miR-381-3p	0,10	0,63
hsa-miR-942-3p	0,97	0,88	hsa-miR-99b-5p	0,16	0,54

hsa-miR-301a-3p	0,87	0,98	hsa-miR-664a-3p	0,35	0,35
hsa-miR-30b-5p	0,98	0,87	hsa-miR-5189-3p	0,25	0,44
hsa-miR-4685-3p	1,00	0,84	hsa-miR-1226-3p	0,08	0,60
hsa-miR-1260b	1,00	0,84	hsa-miR-766-3p	0,17	0,48
hsa-miR-21-5p	0,99	0,83	hsa-miR-410-3p	0,02	0,60
hsa-miR-369-5p	0,77	1,04	hsa-miR-375-3p	0,15	0,44
hsa-miR-4422	0,84	0,96	hsa-miR-574-3p	0,29	0,28
hsa-miR-877-5p	0,97	0,83	hsa-miR-133a-3p	0,04	0,52
hsa-miR-181b-5p	0,78	1,01	hsa-miR-92a-3p	0,01	0,54
hsa-miR-93-5p	0,97	0,81	hsa-miR-32-3p	0,23	0,32
hsa-miR-4454	0,46	1,32	hsa-miR-148a-3p	0,22	0,33
hsa-miR-548z	0,77	1,00	hsa-let-7d-3p	0,17	0,36
hsa-miR-98-3p	0,91	0,86	hsa-miR-6511b-3p	0,12	0,41
hsa-miR-29b-3p	0,96	0,80	hsa-miR-6511a-3p	0,25	0,27
hsa-miR-33a-5p	0,84	0,91	hsa-miR-4732-3p	0,25	0,24
hsa-miR-214-5p	0,72	1,03	hsa-miR-3605-3p	0,23	0,25
hsa-miR-1843	0,88	0,87	hsa-miR-144-3p	0,24	0,22
hsa-miR-1304-3p	0,77	0,97	hsa-miR-125b-5p	0,21	0,21
hsa-miR-3120-3p	0,72	1,03	hsa-miR-505-5p	0,20	0,18
hsa-miR-30b-3p	0,88	0,86	hsa-miR-185-5p	0,18	0,15
hsa-miR-337-3p	0,59	1,14	hsa-miR-22-3p	0,15	0,17
hsa-miR-181c-3p	0,74	0,99	hsa-miR-377-5p	0,11	0,21
hsa-miR-23a-3p	0,86	0,86	hsa-miR-1306-5p	0,03	0,29
hsa-miR-496	0,68	1,05	hsa-miR-195-5p	0,03	0,27
hsa-miR-126-3p	0,87	0,86	hsa-miR-10401-3p	0,14	0,16
hsa-miR-142-5p	0,92	0,79	hsa-miR-7-5p	0,09	0,21
hsa-miR-18a-3p	0,93	0,78	hsa-miR-122b-3p	0,11	0,18
hsa-miR-330-3p	0,88	0,82	hsa-miR-122-5p	0,10	0,18
hsa-miR-140-5p	0,75	0,96	hsa-miR-455-3p	0,07	0,12
hsa-miR-532-3p	0,87	0,83	hsa-miR-200a-3p	0,06	0,11
			hsa-miR-18a-5p	0,02	0,09

Anexo B: Lista completa de miRNAs resultantes del análisis de expresión diferencial entre grupos de pacientes VIH y VIH/SARS, de acuerdo a su significancia.

miRNAs	logFC	logCPM	LR	p-value	FDR
hsa-miR-25-3p	1.349	12.42	28.687	0.000	0.000
hsa-miR-	4.869	1.58	28.531	0.000	0.000
hsa-miR-27a-3p	1.751	13.04	26.947	0.000	0.000
hsa-miR-18b-5p	-3.856	5.67	23.371	0.000	0.000
Hsa-let-7a-5p	1.223	11.97	23.234	0.000	0.000
hsa-miR-3613-3p	-3.362	3.77	20.578	0.000	0.000
hsa-miR-374c-3p	-1.265	9.53	19.489	0.000	0.000
hsa-let-7b-5p	1.276	10.37	19.344	0.000	0.000
hsa-miR-374b-5p	-1.260	9.52	19.336	0.000	0.000
hsa-miR-30c-5p	1.350	8.64	19.190	0.000	0.000
hsa-miR-143-3p	1.586	9.26	17.839	0.000	0.001
hsa-miR-197-3p	-1.118	10.00	17.758	0.000	0.001
hsa-let-7i-5p	0.901	10.23	16.703	0.000	0.001
hsa-miR-145-5p	1.131	10.03	15.678	0.000	0.002
hsa-let-7g-5p	0.920	10.00	13.934	0.000	0.005
hsa-miR-16-5p	0.916	17.93	13.814	0.000	0.005
hsa-miR-424-5p	1.817	8.43	13.540	0.000	0.005
hsa-miR-150-3p	3.471	2.71	12.953	0.000	0.007
hsa-miR-342-3p	-0.767	11.97	12.503	0.000	0.009
hsa-miR-642a-3p	3.522	2.53	12.242	0.000	0.009
hsa-miR-363-3p	1.162	9.90	11.512	0.001	0.012
hsa-miR-196b-5p	2.922	2.57	11.469	0.001	0.012
hsa-miR-374a-5p	-1.315	7.53	11.427	0.001	0.012
hsa-miR-193a-5p	2.486	3.43	11.423	0.001	0.012
hsa-miR-4286	1.987	9.35	10.983	0.001	0.015
hsa-miR-3074-5p	0.830	11.95	10.269	0.001	0.021
hsa-miR-23b-3p	0.823	12.66	10.069	0.002	0.022
hsa-miR-9985	2.301	3.41	9.754	0.002	0.025
hsa-miR-425-5p	0.982	10.15	9.693	0.002	0.025
hsa-miR-200b-3p	-2.447	3.41	9.667	0.002	0.025
hsa-miR-3200-3p	3.195	3.22	9.219	0.002	0.030
hsa-miR-4433b-5p	-1.593	8.68	9.184	0.002	0.030

miRNAs	logFC	logCPM	LR	p-value	FDR
hsa-miR-4433a-3p	-1.578	8.65	9.110	0.003	0.031
hsa-miR-1249-3p	-2.722	5.18	8.678	0.003	0.038
hsa-miR-19b-3p	1.137	7.64	8.559	0.003	0.038
hsa-miR-30e-5p	1.375	7.26	8.539	0.003	0.038
hsa-miR-24-3p	0.737	12.27	8.530	0.003	0.038
hsa-miR-335-3p	-1.334	7.61	8.231	0.004	0.043
hsa-miR-3615	2.066	6.24	8.166	0.004	0.044
hsa-let-7d-5p	1.093	9.55	8.011	0.005	0.046
hsa-miR-181a-2-3p	1.898	6.40	7.937	0.005	0.047

Anexo C: Declaración obligatoria del uso de herramientas de IA

El autor y tutor de este trabajo de investigación declaran el uso de ChatGPT durante la ejecución y redacción de este trabajo, con el fin de generar ideas relacionadas con el mismo. Después de utilizar la herramienta, el autor y tutor revisaron y editaron minuciosamente el contenido según fuera necesario y asumen la total responsabilidad por el contenido de esta memoria.

