UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

TESIS DOCTORAL

IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES PLASMÁTICOS ASOCIADOS A LA INFECCIÓN POR SARS-CoV-2 EN PERSONAS CON VIH

IDENTIFICATION OF PLASMA BIOMARKERS ASSOCIATED WITH SARS-CoV-2 INFECTION IN PEOPLE WITH HIV

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

CELIA CRESPO BERMEJO

DIRECTORES

Dra. VERÓNICA BRIZ SEBASTIÁN

Dr. RICARDO MADRID GONZÁLEZ

Dra. AMANDA FERNÁNDEZ RODRÍGUEZ

©Celia Crespo Bermejo, 2024

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Doctorado en Investigación Biomédica

TESIS DOCTORAL

Identificación de biomarcadores plasmáticos asociados a la infección por SARS-CoV-2 en personas con VIH

Identification of plasma biomarkers associated with SARS-CoV-2 infection in people with HIV

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

CELIA CRESPO BERMEJO

Laboratorio de investigación en patogénesis e inmunidad viral

Instituto de Salud Carlos III

Madrid, 2024

A mi familia,

AGRADECIMIENTOS

Aunque parecía que nunca llegaría, aquí estamos al final del camino, terminando la que para mí es la parte más difícil pero también la más bonita de la tesis. Y es que, ¿qué sería de este camino sin todas las personas que nos acompañan y hacen de él un camino lleno de momentos inolvidables? Por eso, a través de este apartado quiero agradecer a todas y cada una de estas personas que me han ayudado a que todo sea más fácil y bonito.

En primer lugar, quiero dar las gracias a mis tres directores, Verónica, Ricardo y Amanda. Sin vuestra ayuda, esta tesis no habría sido posible. Y en especial a ti, Verónica, por haber confiado en mí durante todo este tiempo y por darme la oportunidad de formar parte de tu equipo. Gracias por vuestro apoyo y paciencia.

Gracias a todos mis compañeros del despacho 345, tanto los que seguís como los que formasteis parte de él en algún momento. Me siento muy afortunada de haber podido compartir todos estos años con vosotros, llenos de millones de momentos juntos tanto dentro como fuera. Sin vosotros nada de esto hubiera sido igual. A mi querido Óscar, por ser mi profe favorito de R, por tu paciencia enseñándome cada día y por aguantarme y escucharme. Gracias por haber hecho todo más fácil. A mi querida Ana, por ser mi hermana mayor desde el primer día. Gracias por tu ayuda, tus consejos, tu apoyo y tu cariño. Gracias por ayudarme a encontrar mi sitio, a sentirme arropada y sin duda gracias por ser una de las mejores personas que conozco. Si no hubieras aparecido en mi camino, no estoy segura de haber llegado a donde estoy hoy. Nunca olvidaré esa cena de Navidad donde nos conocimos. A mi Rafita por haber llenado el despacho de energía y alegría. A mi Martita por ser como una hermana pequeña. Los dos os habéis convertido en personas muy especiales para mí en muy poquito tiempo. A mis polluelos que ya no son tan polluelos, Manu y Cris. Gracias por ser mis compañeros de aventuras en el mundo de las cacas. A Sergio, Violeta, Sonia, Carlitos, Erick, Rubén, Raquel buena, Raquel mala, María, Paula y Sofía, por formar parte de esta aventura.

A mi querido Javi, que, aunque no hayamos compartido despacho 345, eres uno más. Gracias por haber formado parte de este camino y haber aportado en él tu dulzura y bondad desde mis primeros días allí.

Y por supuesto, a mi querida Peli. ¿Qué decirte que no sepas? Sin ti, esta aventura no habría sido lo mismo. Llegaste a mi vida siendo una completa desconocida y te convertiste en mi mejor amiga. Gracias por haber sido la mejor compañera de trabajo y por convertirte en mi mejor compañera de vida. Gracias por escucharme, por tus sabios consejos y por tu infinita paciencia. Gracias por todos y cada uno de tus detalles. Pero, sobre todo, gracias por compartir tu tiempo conmigo. Me siento muy afortunada de tener una amiga como tú.

Gracias a mi Sepu por ser mi mentor y hermano mayor. Gracias por tus consejos, por tu apoyo, por darme calma cuando más lo necesitaba y por ayudarme a creer en mí. Ojalá todos tuvieran la suerte de tener en su vida a personas como tú.

Gracias a mis compañeros del despacho de VIH, por haberme arropado y acogido siempre como si fuera una más. En especial, a Guiomar, Mario, Fer y Rubén, por no solo ser compañeros, sino también amigos. Gracias por escucharme y aguantarme todo este tiempo, tanto fuera como dentro del laboratorio.

Gracias a la Dra. María Ángeles Jiménez, al Dr. Isidoro Martínez y al Dr. Salvador Resino por haberme ayudado y por haberme dado su cariño.

Gracias al Dr. Saumya Das por darme la oportunidad de formar parte de su grupo durante los tres meses de estancia. Por brindarme su apoyo y confiar en mí desde el primer momento, por hacerme sentir parte del equipo y apoyarme como el que más. También quiero agradecer a mis compañeros del laboratorio del Dr. Das. En especial, a Natacha por ayudarme desde el principio y hacer mi estancia allí más fácil, y a Marta por convertir mis dos últimas semanas en dos semanas inolvidables.

Gracias a la persona más importante para mí durante mi estancia en Bostón, mi querida Tara. Gracias por escucharme y hacer que hablar en inglés fuera divertido. Gracias por ser mi apoyo incondicional allí.

Gracias a Rosalía por orientarme y guiarme durante estos últimos meses. Gracias a tu ayuda, gestionar todo ha sido más fácil y sencillo.

Además, quiero agradecer a todos mis amigos por ser mi gran apoyo, tanto en los momentos buenos como en los malos. A los de siempre y a los que se han ido sumando. A Paula y Javi, por estar siempre a mi lado en las buenas y en las malas, por escucharme, por darme los mejores consejos y por inyectarnos siempre una doble dosis de energía. No me imagino mi futuro sin vosotros. A Richi y Nuria por haberme acompañado durante todos estos años, y por vuestro apoyo y ánimo. A Irene por estar siempre ahí. No importa la distancia que nos separe, siempre estará todo igual. A mis amigos del máster de microbiología con los que inicie mis andaduras por el mundo de la micro y en el CNM. A Paula Bueno y Silvia, que, junto con Mario, desde entonces habéis sido un pilar fundamental para mí. Gracias a mis chicas de inglés, Anabel y Alba, por hacerme siempre un poquito más feliz. Gracias al máster de profe por poner en mi camino a mis queridas Supernenas, Cris y Guille. Gracias por haberme ayudado en estos meses tan difíciles para mí y por convertir esta etapa tan dura en un momento de risas y desconexión. Y por supuesto, nuevamente, a mi Peli, Ana, Fer, Guiomar, Rafa y Marta, uno de los regalos más bonitos que me ha hecho el CNM.

Por último, quiero dar las gracias a toda mi familia por preocuparse tanto por mí y animarme en todo momento. En especial a mis padres, Pilar y Nino, por enseñarme el valor del esfuerzo y la perseverancia. Gracias a vosotros, soy quien soy hoy. Gracias por apoyarme en cada decisión, por vuestro amor incondicional y por haber construido esta familia tan bonita que tenemos, lo cual hace que todo sea más fácil. Y por supuesto, a mi hermano David, por ser una de las personas que más quiero en este mundo. Gracias por hacerme sentir muy afortunada y orgullosa de tener un hermano cómo tú.

ÍNDICE

ÍNDICE

ABREVIATURAS 1

RESUMEN/ABSTRACT 27

RESUMEN 29

ABSTRACT 31

1. INTRODUCCIÓN 33

1.1. Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) 35

1.1.1. Epidemiología del VIH 35

1.1.2. Aspectos virológicos del VIH 35

1.1.3. Transmisión del VIH 37

1.1.4. Fisiopatogenia del VIH 37

1.1.5. Tratamiento de la infección por VIH 38

1.1.6. Inflamación crónica y envejecimiento prematuro asociado a la infección por VIH 39

1.1.7. Riesgo de desarrollo de cáncer asociado a la infección por VIH 47

1.1.8. Enfermedad cardiovascular asociada a la infección por VIH 55

1.2. Virus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2 ..... 61)

1.2.1. Epidemiología del SARS-CoV-2 61

1.2.2. Aspectos virológicos del SARS-CoV-2 62

1.2.3. Transmisión del SARS-CoV-2 63

1.2.4. Fisiopatogenia del SARS-CoV-2 63

1.2.5. Tratamiento de la COVID-19 64

1.2.6. Inflamación crónica y envejecimiento prematuro asociado a la infección por SARS-CoV-2..... 66

1.2.7. Riesgo de desarrollo de cáncer asociado la infección por SARS-CoV-2..... 67

1.2.8. Enfermedad cardiovascular asociada a la infección por SARS-CoV-2..... 68

1.3. Impacto del SARS-CoV-2 en PVIH 68

1.3.1. Impacto del SARS-CoV-2 en inflamación crónica y envejecimiento prematuro en PVIH 69

1.3.2. Impacto del SARS-CoV-2 en el riesgo de desarrollo de cáncer en PVIH 70

1.3.3. Impacto del SARS-CoV-2 en la enfermedad cardiovascular en PVIH..... 70

1.4. MicroRNAs..... 71

1.4.1. Biogénesis de los miARNs 71

1.4.2. miARNs circulantes como marcadores predictivos 72

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS..... 75

2.1. Hipótesis..... 77

2.2. Objetivo general..... 77

2.3. Objetivos específicos 77

3. PACIENTES Y MÉTODOS..... 79

3.1. Pacientes 81

3.2. Características clínicas y epidemiológicas..... 82

3.3. Obtención y procesamiento de las muestras de sangre..... 83

3.4. Análisis de biomarcadores plasmáticos 84

3.4.1. Biomarcadores asociados a la inflamación crónica y el envejecimiento prematuro 85

3.4.2. Biomarcadores asociados al riesgo de desarrollar cáncer..... 86

3.4.3. Biomarcadores asociados al desarrollo de ECV 86

3.5. Estudio del perfil de expresión de miARNs plasmáticos mediante secuenciación masiva..... 87

3.5.1. Selección de pacientes..... 87

3.5.2. Extracción de ARN total 87

3.5.3. Preparación de librerías de secuenciación 88

3.5.4. Secuenciación..... 90

3.6. Análisis estadístico e integración de datos 90

3.6.1. Análisis estadístico de las variables clínicas y epidemiológicas..... 91

3.6.2. Análisis estadístico de los biomarcadores plasmáticos 91

3.6.3. Análisis bioinformático de los miARNs 92

3.6.4. Análisis estadístico de los miARNs..... 95

3.6.5. Análisis funcional de los miARNs 96

4. RESULTADOS 97

Estudio 1: Caracterización de la población de estudio..... 99

4.1. Población de estudio..... 101

Estudio 2: Evaluación del impacto a medio plazo del SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos asociados a la inflamación crónica y el envejecimiento prematuro. .. 105

4.2. Análisis de biomarcadores plasmáticos asociados a la inflamación crónica y el envejecimiento prematuro 107

Estudio 3: Evaluación del impacto a medio plazo del SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos asociados al riesgo de desarrollo de cáncer. 109

4.3. Análisis de biomarcadores plasmáticos relacionados con el riesgo de desarrollo de cáncer. 111

Estudio 4: Interacción entre biomarcadores plasmáticos asociados a la inflamación crónica, el envejecimiento prematuro y el riesgo de desarrollo de cáncer. 113

4.4. Interacción entre biomarcadores plasmáticos asociados a inflamación, envejecimiento prematuro y cáncer en individuos del grupo VIH/SARS. 115

Estudio 5: Evaluación del impacto a medio plazo del SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos asociados a ECV. 117

4.5. Análisis de biomarcadores plasmáticos relacionados con ECV 119

Estudio 6: Caracterización del perfil de expresión de miARNs en PVIH que han resuelto la infección por SARS-CoV-2. 125

4.6. Población de estudio..... 127

4.7. Análisis bioinformático del perfil miARNs plasmáticos..... 127

4.8. Expresión diferencial del perfil miARNs plasmáticos 128

4.8.1. Análisis exploratorio de la matriz de miARNs 128

4.8.2. Análisis del perfil de expresión miARNs..... 128

4.8.3. Análisis funcional..... 130

5. DISCUSIÓN..... 133

6. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS 153

CONCLUSIONES 155

CONCLUSIONS 156

7. BIBLIOGRAFÍA..... 157

8. ANEXOS 185

Anexo I. Hospitales participantes en el estudio. 187

Anexo II. Paneles Procartaplex Multiplex Immunoassays..... 191

Human Cytokine Storm Panel 21-Plex 193

Immuno-Oncology Checkpoint 14-Plex Human ProcartaPlex™ Panel 1..... 195

Immuno-Oncology Checkpoint 9-Plex Human ProcartaPlex™ Panel 3..... 196

Coagulation 6-Plex Human ProcartaPlex™ Panel 1..... 197

Coagulation 4-Plex Human ProcartaPlex™ Panel 3..... 198

Custom Panels - Procartaplex multiplex immunoassays 199

Anexo III. Niveles de biomarcadores plasmáticos relacionados con inflamación crónica y envejecimiento prematuro 201

Anexo IV. Niveles de biomarcadores plasmáticos relacionados con el riesgo de desarrollo de cáncer. 205

Anexo V. Asociaciones entre biomarcadores plasmáticos asociados a inflamación crónica, envejecimiento prematuro y riesgo de desarrollo de cáncer en individuos del grupo VIH/SARS. 209

Anexo VI. Niveles de biomarcadores plasmáticos asociados a ECV. 213

Anexo VII. Características epidemiológicas y clínicas de la subpoblación de estudio. 217

Anexo VIII. Visualización gráfica de la normalización de la matriz de microARNs . 221

Anexo IX. Validación del Modelo de Análisis de Expresión de microARNs (MLG no ajustado) mediante QQ-Plot 225

9.TABLAS Y FIGURAS 235

FIGURAS 237

TABLAS 238

ABREVIATURAS

A

aARM	Ratio de la media aritmética ajustada
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNc	ADN copia
ALT	Alanina aminotransferasa
AMR	Ratio de la media aritmética
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	ARN mensajero
ARNmc+	ARN monocatenario de polaridad positiva
AST	Aspartato transaminasa

B

BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
BNP	Péptido natriurético cerebral
BTLA	Atenuador de linfocitos B y T

C

CCL2	Ligando 2 de quimioquina con motivo C-C
CCL3	Ligando 3 de quimioquina con motivo C-C
CCL4	Ligando 4 de quimioquina con motivo C-C
CD134	Clúster de diferenciación 134
CD137	Clúster de diferenciación 137
CD155	Clúster de diferenciación 155
CD244	Clúster de diferenciación 244
CD252	Clúster de diferenciación 252
CD27	Clúster de diferenciación 27
CD274	Clúster de diferenciación 274
CD28	Clúster de diferenciación 28

CD40	Clúster de diferenciación 40
CD40L	Ligando de CD40
CD70	Clúster de diferenciación 70
CD80	Clúster de diferenciación 80
CD86	Clúster de diferenciación 86
CMSP	Células mononucleares de sangre periférica
CORIS	Cohorte de la Red de Investigación del SIDA
CPA	Célula presentadora de antígenos
CSF1	Factor estimulante de colonias 1
CSF3	Factor estimulante de colonias 3
CTLA4	Antígeno 4 de linfocitos T citotóxicos
CV	Carga viral
CVD	Cardiovascular disease
CXCL10	Ligando 10 de quimioquina con motivo C-X-C
CXCL8	Ligando 8 de quimioquina con motivo C-X-C

E

ECA2	Enzima convertidora de angiotensina 2
ECV	Enfermedad cardiovascular
EDTA	Ácido etilendiamin tetraacético
EMA	Agencia Europea de Medicamentos

F

FC	Tasa de cambio
FDR	Tasa de falso descubrimiento
FvW	Factor von Willebrand

G

G-CSF	Factor estimulante de granulocitos

GITR	Proteína relacionada con TNFR inducida por glucocorticoides humanos
GITRL	Ligando de GITR
GLM	Generalized linear model
GM-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos

H

HAVCR2	Receptor celular 2 del virus de la hepatitis A
HDL	Lipoproteína de alta densidad
HVEM	Mediador de entrada del virus herpes

I

ICOS	Coestimulador inducible de células T
ICOS-L	Ligando de ICOS
IDO	Indolamida 2,3-dioxigenasa
IE	Inhibidores de la entrada
IFNA1	Interferón alfa 1
IFN-α	Interferón alfa
IFN-γ	Interferón gamma
IFNG	Interferón gamma
IgSF	Superfamilia de inmunoglobulinas
IFN	Interferón
II	Inhibidores de la integrasa
IL	Interleuquina
IL-1	Interleuquina 1
IL-10	Interleuquina 10
IL12B	Interleuquina 12 subunidad beta
IL12p70	Interleuquina 12p70
IL-13/IL13	Interleuquina 13
IL-15	Interleuquina 15

IL-17A/IL17A	Interleuquina 17A
IL-18/IL18	Interleuquina 18
IL-1ra	Interleuquina 1ra
IL-1β/IL1B	Interleuquina 1 beta
IL-2/IL2	Interleuquina 2
IL-4/IL4	Interleuquina 4
IL-5/IL5	Interleuquina 5
IL-6/IL6	Interleuquina 6
IL-8/IL8	Interleuquina 8
IMC	Índice de masa corporal
IP	Inhibidores de la proteasa
IP-10	Proteína 10 inducible por interferón gamma
ITAN	Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos
ITNAN	Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos

K

kb	Kilobases

L

LAG-3	Gen de activación de linfocitos tipo 3
LTA	Linfotoxina alfa
LTR	Secuencias repetidas largas

M

MCP-1	Proteína quimioatrayente de monocitos-1
MHC-II	Complejo mayor de histocompatibilidad II
MiARN	MicroARN
MIP-1α	Proteína inflamatoria de los macrófagos de tipo 1 alfa
MIP-1β	Proteína inflamatoria de los macrófagos de tipo 1 beta

MiRNA	MicroRNA
mL	Mililitro
MLG	Modelo lineal generalizado
mRISC	Complejo de silenciamiento inducido por miARN

N

NCR3LG1	Ligando 1 del receptor 3 desencadenante de citotoxicidad natural
NF-Kb	Factor nuclear kappa beta
ng	Nanogramo
NK	Asesinas naturales
NKp30	Receptor natural de citotoxicidad 3
NT-proBNP	Propéptido natriurético cerebral N-terminal

O

OMS	Organización Mundial de la Salud
ONU	Organización de las Naciones Unidas
ORF	Marco de lectura abierto

P

p	Valor de probabilidad p
PBS	Tampón fosfato salino
PCI	Puntos de control inmunitario
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PD-1	Proteína 1 de muerte celular programada
PDCD1	Proteína 1 de muerte celular programada
PDCD1LG2	Ligando 2 de muerte celular programada
PD-L1	Ligando 1 de muerte celular programada
PD-L2	Ligando 2 de muerte celular programada
PE	Ficoeritrina

PEA	Tecnología de ensayo de proximidad
PLS-DA	Análisis discriminante mínimos cuadrados parciales
PRNP	Proteína priónica
PVIH	Personas con VIH

Q

q	Valor de p corregido por la FDR mediante la corrección Benjamin-Hochberg

R

Rho	Coeficiente de correlación de Spearman
RIC	Rango intercuartílico
Rpm	Revoluciones por minuto

S

SARS-CoV-2	Coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo-2
SASP	Fenotipo secretor asociado a la senescencia
SDRA	Síndrome de dificultad respiratoria aguda
SIDA	Síndrome de la inmunodeficiencia adquirida
SIRPα	Proteína alfa reguladora de la señal
SIV	Senescencia inducida por virus
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona

T

TAR	Terapia antirretroviral
TAR	Terapia antirretroviral
TCR	Receptor de células T
TF	Factor tisular
TIGIT	Inmunorreceptor de células T con inmunoglobulina y dominio ITIM

TIM-1 Dominio de inmunoglobulina y dominio 1 de mucina de células T

TIM-3 Dominio de inmunoglobulina y dominio 3 de mucina de células T

TIM-4 Dominio de inmunoglobulina y dominio 4 de mucina de células T

TIM-4L Ligando TIM-4

TIMD4 Dominio de inmunoglobulina y dominio 4 de mucina de células T

TNF Factor de necrosis tumoral

TNFRSF9 Miembro 9 de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral

TNFRSF14 Miembro 14 de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral

TNFRSF18 Miembro 18 de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral

TNFRSF4 Miembro 4 de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral

TNFSF4 Miembro 4 de la superfamilia de ligandos del factor de necrosis tumoral

TNF-α Factor de necrosis tumoral alfa

TNF-β Factor de necrosis tumoral beta

U

UAB Buffer Universal de Ensayo

UDI Usuario de drogas intravenosas

V

VIH Virus de la inmunodeficiencia humana

VIH-1 Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1

VIH-2 Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 2

VISTA Supresor de la activación de linfocitos T con dominio variable de inmunoglobulina

VSIG3 Conjunto V y dominio Ig 3

VSIR	Receptor inmunorregulador del conjunto V

SÍMBOLOS Y NÚMEROS

α	Alfa
β	Beta
γ	Gamma
µL	Microlitro
4-1BBL	Ligando de 4-1BB

RESUMEN/ABSTRACT

RESUMEN

La pandemia COVID-19, causada por el SARS-CoV-2, ha generado preocupaciones específicas para las personas con VIH (PVIH). Ambas infecciones se relacionan con problemas relacionados con la inflamación crónica, el envejecimiento prematuro, el riesgo de desarrollar cáncer y la enfermedad cardiovascular (ECV), y afectan a los niveles de expresión de microARNs (miARNs). El principal objetivo de esta tesis fue analizar el impacto a medio plazo de la infección por SARS-CoV-2 en PVIH, a través de la determinación de biomarcadores plasmáticos relacionados con los aspectos descritos previamente y del análisis del perfil de miARNs.

Se incluyeron un total de 95 PVIH bajo terapia antirretroviral, estratificadas según su estado de infección por SARS-CoV-2: 1) 48 PVIH tras ≥ 12 semanas desde que se diagnosticó la infección por SARS-CoV-2 (PCR+) (VIH/SARS) y 2) 47 PVIH sin infección previa por SARS-CoV-2 (VIH). Se recogieron datos epidemiológicos y clínicos a partir de las historias clínicas. Se realizó una selección de marcadores plasmáticos asociados a inflamación crónica, el envejecimiento prematuro, el riesgo de desarrollar cáncer y la ECV y se cuantificaron mediante ensayos ELISA multiplex de Procartaplex (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos). En un subgrupo de 40 PVIH representativos de cada grupo, se analizó mediante secuenciación masiva el perfil de expresión de miARNs. En cuanto al análisis estadístico, se utilizaron modelos lineales generalizados (MLG) ajustados por las variables significativas con distribución gamma, para estimar las diferencias de los niveles de marcadores plasmáticos entre los dos grupos de estudio. Se estudió la relación entre los biomarcadores plasmáticos significativos de inflamación crónica, envejecimiento prematuro y riesgo de desarrollo de cáncer mediante correlaciones de Spearman. Para estimar las diferencias entre grupos del perfil de microARNs, se utilizaron MLGs con una distribución negativa binomial.

Nuestros resultaros mostraron que las PVIH tenían una mediana de edad de 45 años, con un 81,9% de ellas siendo de origen étnico caucásico y el 80% eran hombres. Todos las PVIH del grupo VIH/SARS experimentaron síntomas, siendo en el 83.3% de los casos

síntomas leves. La mediana de tiempo entre el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 y la recolección de muestras fue de 12 [RIC, 9-16] semanas. El grupo VIH/SARS mostró alteraciones significativas más elevadas de biomarcadores plasmáticos asociados con la inflamación crónica (IL-4, IL-12B, IL-17A e IFN-α (IFNA1)), el envejecimiento prematuro (TNF-β (LTA), IL-8 (CXCL8), IL-13, MIP-1α (CCL3) y MIP-1β (CCL4)), el riesgo de desarrollo de cáncer (CD80, PD-L2 (PDCD1LG2), CD276, PD-1 (PDCD1), CD47, TIM-3 (HAVCR2), TIM-4 (TIMD4), CD137 (TNFRSF9), GITR (TNFRSF18), HVEM (TNFRSF14)) y la ECV (NT-proBNP, vWF, factores de coagulación IX, XI, XII, XIII, antitrombina, protrombina, proteínas S y C dependientes de vitamina K, dímero D, TNF-β (LTA), IL-17A, IL-8 (CXCL8), proteína C reactiva y ferritina) en comparación con el grupo VIH. Además, se observaron correlaciones positivas significativas entras citoquinas inflamatorias y proteínas asociadas a PCI (IL-13 y CD80; IL-13 y GITR (TNFRSF18); IL-13 y HVEM (TNFRSF14); TNF-β (LTA) y CD80; TNF-β (LTA) y GITR (TNFRSF18); TNF-β (LTA) y HVEM (TNFRSF14); IL-4 y GITR (TNFRSF18); IL-12B y CD80; IL-17A y HVEM (TNFRSF14); CCL3 y GITR (TNFRSF18); INF-α (IFNA1) y CD80; INF-α (IFNA1) y GITR (TNFRSF18)) en el grupo VIH/SARS. Finalmente, se realizó un análisis del perfil de miARNs para comprobar si se obtenían resultados similares a los observados en los marcadores plasmáticos. Se identificaron 10 miARNs con diferencias significativas entre los dos grupos de estudio los cuales han sido previamente considerados como biomarcadores del desarrollo de distintos tipos de cánceres como el de mama y hepático, entre otros (familia miARN de let 7 (a, f, b y g), hsa-miR-99a-5p, hsa-miR-574-3p, hsa-miR-197-3p, hsa-miR-122-5p) y secuelas/patologías neurológicas (hsa-miR-10b-5p y hsa-miR-191-5p). El análisis funcional de las rutas confirmó que los microRNAs significativos en su conjunto estaban implicados en distintos tipos de cáncer, vías de señalización y ciclo celular, entre otras. Estos resultados avalan la función individual de cada uno de estos miARNs.

El impacto a medio plazo del SARS-CoV-2 en PVIH produce un aumento de biomarcadores asociados a inflamación crónica, envejecimiento acelerado del sistema inmunitario, a un mayor riesgo de desarrollar tumores de forma temprana y desarrollar ECV. Es necesario indagar en como el aumento de estos marcadores puede afectar al desarrollo de comorbilidades a largo plazo.

ABSTRACT

The COVID-19 pandemic, caused by SARS-CoV-2, has raised specific concerns for people with HIV (PHIV). Both infections are associated with issues related to chronic inflammation, premature aging, the risk of developing cancer, and cardiovascular disease (CVD), and they affect microRNA (miRNA) expression levels. The main objective of this thesis was to analyze the mid-term impact of SARS-CoV-2 infection on PHIV, through the determination of plasma biomarkers related to the aspects described above and the analysis of miRNA profiles.

A total of 95 PHIV on antiretroviral therapy were included, stratified according to their SARS-CoV-2 infection status: 1) 48 PHIV at ≥ 12 weeks since SARS-CoV-2 infection diagnosis (PCR+) (HIV/SARS) and 2) 47 PHIV without prior SARS-CoV-2 infection (HIV). Epidemiological and clinical data were collected from medical records. Plasma markers associated with chronic inflammation, premature aging, cancer risk and CVD were selected and quantified using Procartaplex multiplex ELISA assays (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific, USA). In a subgroup of 40 representative PHIV from each group, miRNA expression profiles were analyzed using massive sequencing. For statistical analysis, generalized linear models (GLMs) adjusted for significant variables with gamma distribution were used to estimate differences in plasma marker levels between the two study groups. The relationship between significant plasma biomarkers of chronic inflammation, premature aging, and cancer development risk was studied using Spearman correlations. GLMs with a negative binomial distribution were used to estimate differences between groups in miRNA profiles.

Our results showed that PHIV had a median age of 45 years, with 81.9% of them being of Caucasian ethnicity and 80% being male. All PHIV in the HIV/SARS group experienced symptoms, 83.3% of them being mild symptoms. The median time between SARS-CoV-2 infection diagnosis and sample collection was 12 [IQR, 9-16] weeks. The HIV/SARS group showed significantly higher alterations in plasma biomarkers associated with chronic inflammation (IL-4, IL-12B, IL-17A, and IFN-α (IFNA1)), premature aging (TNF-β

(LTA), IL-8 (CXCL8), IL-13, MIP-1α (CCL3), and MIP-1β (CCL4)), cancer development risk (CD80, PD-L2 (PDCD1LG2), CD276, PD-1 (PDCD1), CD47, TIM-3 (HAVCR2), TIM-4 (TIMD4), CD137 (TNFRSF9), GITR (TNFRSF18), HVEM (TNFRSF14)), and CVD (NT-proBNP, vWF, coagulation factors IX, XI, XII, XIII, antithrombin, prothrombin, vitamin K-dependent proteins S and C, D-dimer, TNF-β (LTA), IL-17A, IL-8 (CXCL8), C-reactive protein, and ferritin) compared to the HIV group. In addition, significant positive correlations were observed between inflammatory cytokines and proteins associated with CVD (IL-13 and CD80; IL-13 and GITR (TNFRSF18); IL-13 and HVEM (TNFRSF14); TNF-β (LTA) and CD80; TNF-β (LTA) and GITR (TNFRSF18); TNF-β (LTA) and HVEM (TNFRSF14); IL-4 and GITR (TNFRSF18); IL-12B and CD80; IL-17A and HVEM (TNFRSF14); CCL3 and GITR (TNFRSF18); IFN-α (IFNA1) and CD80; IFN-α (IFNA1) and GITR (TNFRSF18)) in the HIV/SARS group. Finally, a miRNA profile analysis was performed to verify whether similar results to those observed for plasma markers were obtained. Ten miRNAs were identified with significant differences between the two study groups, which have previously been considered as biomarkers for the development of different types of cancers such as breast and liver cancer, among others (let 7 miRNA family (a, f, b and g), hsa-miR-99a-5p, hsa-miR-574-3p, hsa-miR-197-3p, hsa-miR-122-5p) and neurological sequelae/pathologies (hsa-miR-10b-5p and hsa-miR-191-5p). Functional analysis of the pathways confirmed that the significant microRNAs were involved in different cancer types, signalling pathways and cell cycle, among others. These results support the individual function of each of these miRNAs.

The mid-term impact of SARS-CoV-2 on PHIV leads to an increase in biomarkers associated with chronic inflammation, accelerated aging of the immune system, a higher risk of developing tumours early, and developing CVD. Further investigation is needed into how the increase in these markers may affect the development of long-term comorbidities.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)

1.1.1. Epidemiología del VIH

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), sigue siendo un problema de salud pública global. Según el último informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que 39 millones de personas están infectadas por VIH, también conocidas como personas con VIH (PVIH), con 1,3 millones de nuevas infecciones y 630.000 muertes por año (Organización Mundial de la Salud (OMS), 2023a). En España, las cifras más recientes estiman la existencia de 150.000 PVIH (Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/Sida (ONUSIDA), 2023a).

1.1.2. Aspectos virológicos del VIH

El VIH, perteneciente a la familia *Retroviridae*, subfamilia *Orthoretrovirinae* y género *Lentivirus* (Barré-Sinoussi et al., 1983; Gallo et al., 1983), fue identificado como el agente causante del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA) en 1981 (Communicable Disease Center (CDC), 1981, 1982).

En base a las características genéticas y diferencias a nivel de antígenos virales, el VIH se clasifica en dos tipos: VIH tipo 1 (VIH-1) y VIH tipo 2 (VIH-2), los cuales comparten entre un 40 y 50% de homología genética y una estructura genómica similar (Delgado, 2011). El VIH-1 es el subtipo más prevalente, siendo el responsable de la mayoría de las infecciones a nivel global (ONUSIDA, 2023b) mientras que el VIH-2 presenta una menor prevalencia y virulencia, y es endémico principalmente en algunos países del África Occidental y Portugal (Visseaux et al., 2016).

En cuanto a su estructura, el VIH-1 está envuelto por una bicapa lipídica donde se encuentran las glucoproteínas integrales de membrana, formadas por heterodímeros de la proteína gp41 y trímeros de la proteína gp120. Bajo la envoltura lipídica, se encuentra la matriz proteica formada por la proteína p17, seguida de la cápside viral constituida por proteínas estructurales, siendo la proteína p24 una de las principales. La

cápside contiene el material genético, formado por dos moléculas idénticas de ácido ribonucleico (ARN) monocatenario de polaridad positiva (ARNmc+), la nucleoproteína p7 y las enzimas virales transcriptasa inversa, proteasa e integrasa. Al conjunto formado por la cápside y el material genético del VIH se le denomina nucleocápside (Turner & Summers, 1999) (**Figura 1**).

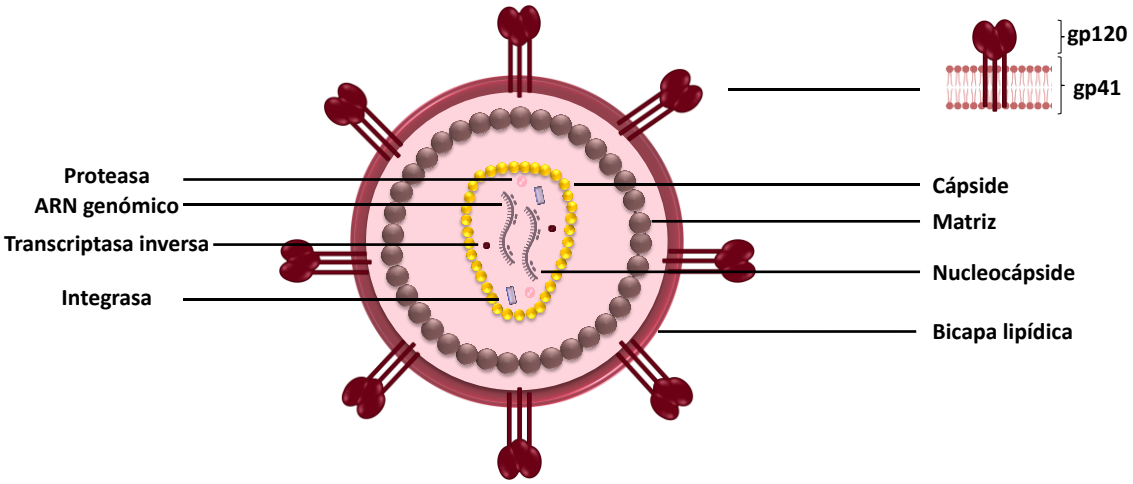


Figura 1. Estructura esquemática de un virión de VIH.

El genoma del VIH-1 tiene una longitud aproximada de 9,8 kilobases (kb) y está formado por nueve genes principales divididos en tres categorías: genes que codifican para las proteínas estructurales (gag y env), genes que codifican para las enzimas virales esenciales (pol), y genes que codifican para las proteínas reguladoras (tat, rev, nef, vif, vpr y vpu). Además, está delimitado en los extremos 5' y 3' por secuencias repetidas largas llamadas LTR, de sus siglas en inglés "*Long Terminal Repeat*", que favorecen la replicación y transcripción, así como la integración del genoma viral en el ácido desoxirribonucleico (ADN) genómico de la célula huésped (Frankel & Young, 1998; Greene, 1991) (**Figura 2**).

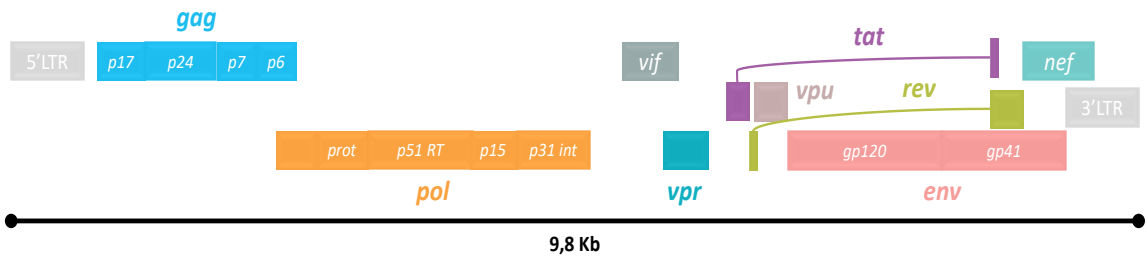


Figura 2. Representación esquemática de la organización del genoma del VIH-1 mostrando los polipéptidos codificados en los 3 marcos de lectura posibles.

1.1.3. Transmisión del VIH

Debido a la presencia del VIH en fluidos corporales como los fluidos vaginales, el semen, la sangre y la leche materna, las principales vías de transmisión del VIH son a través de relaciones sexuales, el uso de drogas intravenosas y transmisión vertical durante el embarazo, el parto o la lactancia (K & PG., 2023).

1.1.4. Fisiopatogenia del VIH

La infección por VIH se desarrolla en las siguientes fases clínicas:

Fase 1. Primoinfección. La infección por el VIH se desencadena cuando el virus entra en contacto con células del sistema inmunitario, especialmente linfocitos T CD4+, su célula diana, y comienza a replicarse. Pasadas 48-72 horas, el virus se disemina a los ganglios linfáticos periféricos, donde permanece durante 7-21 días (fase eclipse). Después de ese período, la carga viral se vuelve detectable en la sangre y el virus comienza a replicarse rápidamente, lo que resulta en la destrucción de los linfocitos T CD4+ activados. Durante esta primera etapa, el VIH establece una infección latente en ciertos tejidos y células, lo que da lugar a la formación de los reservorios virales (Ortega et al., 2022).

Fase 2. Crónica asintomática. Durante esta etapa, el sistema inmune adaptativo se activa, lo que resulta en una disminución de la viremia, aunque el virus continúa replicándose. Esta replicación es mínima y se mantiene principalmente en estado latente en los reservorios virales. Durante este período, los niveles de linfocitos T CD4+

permanecen estables, pero van disminuyendo gradualmente. Además, debido a la presión inmune continua, se desarrollan variantes virales, inflamación crónica persistente y senescencia inmune precoz (Ortega et al., 2022).

Fase 3. Fase avanzada o SIDA. En ausencia de tratamiento, el curso natural de la infección por el VIH evoluciona hacia esta tercera etapa, caracterizada por una respuesta inmunitaria débil y una pérdida de control sobre la infección, dando lugar a elevadas cargas virales, una destrucción masiva de linfocitos T CD4+ y un descenso de los niveles de linfocitos T CD8+, principalmente. Como consecuencia se alcanza un estado de inmunosupresión susceptible a infecciones oportunistas y al desarrollo de comorbilidades, como el envejecimiento, enfermedad cardiovascular y el desarrollo de ciertos tipos de cáncer, pudiendo desencadenar su muerte prematura (Ortega et al., 2022).

1.1.5. Tratamiento de la infección por VIH

El tratamiento de la infección del VIH se basa en el uso de la terapia antirretroviral (TAR), con el objetivo de controlar y reducir al máximo la replicación del virus (CDC, 2022). En la actualidad, existen distintas opciones de tratamiento en función de las distintas familias de fármacos entre las que se incluyen los inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITANs), inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (ITNANs), inhibidores de la entrada (IE), inhibidores de la proteasa (IP) e inhibidores de la integrasa (II) (Cihlar & Fordyce, 2016; Qadir & Malik, 2010; Suttisintong et al., 2019).

La TAR ha mejorado tanto la cantidad como la calidad de vida de las PVIH, a través del control de la replicación viral, la consiguiente reducción de la carga viral y la restauración del número de linfocitos T CD4+ (Bhaskaran et al., 2008; Mocroft et al., 2007). Sin embargo, hoy en día, a pesar de estos avances y del incremento de la población con acceso al TAR, la eliminación definitiva de la infección por el VIH parece aún inalcanzable.

Impacto a largo plazo de la infección por VIH

El amplio acceso a la TAR a nivel global ha reducido significativamente la tasa de progresión clínica a SIDA, disminuyendo la morbi-mortalidad y mejorando, por lo tanto, la calidad de vida de los pacientes (Lundgren et al., 2015; Palella et al., 1998). Sin embargo, a pesar de estos avances, la infección por VIH, incluso en personas bajo una TAR eficaz, se caracteriza por una activación inmunológica persistente y una producción desregulada de citoquinas, las cuales son clave en la desregulación del sistema inmunitario y la progresión hacia el SIDA (Dalgleish & O'Byrne, 2002).

Además, esta activación inmunitaria crónica persistente e inflamación observada en PVIH, a pesar de la TAR, conlleva a un mayor riesgo de desarrollar comorbilidades no relacionadas con el SIDA (Zicari et al., 2019), tradicionalmente asociadas a la población de edad avanzada, que incluyen el desarrollo de cáncer no asociados al VIH, patologías cardiovasculares y alteraciones metabólicas, entre otras (Deeks & Phillips, 2009; Guaraldi et al., 2011; Nasi et al., 2014).

1.1.6. Inflamación crónica y envejecimiento prematuro asociado a la infección por VIH

La infección crónica por VIH se caracteriza por una activación inmunológica persistente y una producción desregulada de citoquinas, las cuales son clave en la desregulación del sistema inmunitario y la progresión hacia el SIDA (Dalgleish & O'Byrne, 2002).

En la regulación de la respuesta inmunitaria e inflamatoria, las citoquinas desempeñan un papel crucial. Estas moléculas son proteínas y glucoproteínas solubles que actúan como reguladores sistémicos, mediando respuestas inmunitarias específicas y coordinando respuestas inflamatorias generales.

Biomarcadores asociados a inflamación crónica

Estimulan o inhiben respuestas celulares, diferenciándose en: a) citoquinas proinflamatorias, como las interleuquinas 8 (IL-8) y 1 (IL-1), así como los factores de

necrosis tumoral (TNF, de sus siglas en inglés "*tumor necrosis factor*"), que activan células inflamatorias; y b) las antiinflamatorias, como las interleuquinas 10 (IL-10) y 1ra (IL-1ra), así como los receptores solubles de IL-1 y TNF. Por otro lado, la interleuquina 6 (IL-6) exhibe una naturaleza dual, ya que puede tener efectos proinflamatorios o antiinflamatorias, dependiendo del contexto (Borish & Steinke, 2003).

En la **Tabla 1** se recogen las principales citoquinas inflamatorias asociadas a inflamación crónica.

Tabla 1. Citoquinas inflamatorias –Biomarcadores asociados a inflamación crónica

Biomarcador	Papel asociado a inflamación	UniProt*
Factores estimuladores de colonias		
G-CSF (CSF3)	- Actúan en la hematopoyesis controlando la producción, diferenciación y función de los granulocitos y los monocitos-macrófagos. - Induce la producción de granulocitos.	P09919
GM-CSF (CSF1)	- Regulación de la supervivencia, proliferación y diferenciación de células precursoras hematopoyéticas, especialmente los fagocitos mononucleares, como los macrófagos y los monocitos. - Promueve la liberación de quimioquinas proinflamatorias → inmunidad innata y en los procesos inflamatorios.	P09603
Interleuquinas		
IL-1β (IL1B)	- Citoquina proinflamatoria potente. - Induce múltiples respuestas inmunitarias y procesos inflamatorios, como la activación de células T y B. - Promueve la diferenciación de células T hacia Th17 y trabaja en sinergia con otras citoquinas como IL-12, TNF-α e IL-6.	P01584
IL-2 (IL2)	- Producida por células T en respuesta a estímulos antigénicos. - Es necesaria para la proliferación de células T y otras funciones esenciales para la regulación de la respuesta inmune. - Puede activar células B, monocitos, células asesinas activadas por linfocinas, células NK y células de glioma.	P60568
IL-4 (IL4)	- Producida por mastocitos, células T, eosinófilos y basófilos.	P05112

	- Papel clave en la regulación de la producción de anticuerpos, la hematopoyesis y la inflamación, así como en el desarrollo de respuestas de células T efectoras. - Regula la producción de anticuerpos. - Induce la expresión de moléculas MHC de clase II.	
IL-5 (IL5)	- Producida por linfocitos T y células NK que desempeña un papel importante en la supervivencia, diferenciación y quimiotaxis de los eosinófilos. - Actúa sobre células B para inducir la producción de inmunoglobulinas.	P05113
IL-6 (IL6)	- Potente inductor de la respuesta de fase aguda. - Papel esencial en la diferenciación de células B en células secretoras de inmunoglobulinas. - Participa en la diferenciación de linfocitos y monocitos. - Actúa sobre células B, células T, hepatocitos, células progenitoras hematopoyéticas y células del sistema nervioso central. - Esencial para la generación de células Th17.	P05231
IL-10 (IL10)	- Inhibe la síntesis de varias citoquinas, incluyendo IFN-gamma, IL-2, IL-3, TNF-α y GM-CSF producidas por macrófagos activados y por células T auxiliares. - Pertenece a la familia de la IL-10.	P22301
IL-12p70 (IL12B)	- Actúa como factor de crecimiento para células T y NK activadas, y estimula la producción de IFN-gamma. - Induce inflamación autoinmune y podría estar implicada en enfermedades autoinflamatorias y en la tumorigénesis. - Se asocia con la IL-23A formando la IL-23, cuyo papel es clave en la inmunidad innata y adaptativa. - Promueve la producción de citoquinas inflamatorias.	P29460
IL-13 (IL13)	- Inhibe la producción de citoquinas inflamatorias. - Sinergia con IL2 en la regulación de la síntesis de interferón-gamma. - Puede ser crítico en la regulación de respuestas inflamatorias e inmunitarias. - Regula positivamente la expresión de IL-31RA en macrófagos (por similitud).	P35225
IL-17A (IL17A)	- Citoquina efectora del sistema inmunitario innato y adaptativo implicada en la respuesta inflamatoria. - Induce la activación y reclutamiento de neutrófilos en sitios de infección e inflamación. - Media la quimiotaxis de los neutrófilos en el epitelio de las vías respiratorias.	Q16552

	- Implicada en el mantenimiento de la integridad de las barreras epiteliales durante la inflamación y la infección.	
IL-18 (IL18)	- Promueve la inflamación y ayuda en la reparación de barreras celulares. - Actúa en sinergia con IL-12 para estimular la producción de IFN-gamma en células T-*helper* tipo I.	Q14116
Factores de necrosis tumoral		
TNF-α (TNF)	- Producida principalmente por macrófagos. - Puede inducir la muerte de ciertas líneas celulares tumorales. - Se une a TNFRSF1A y TNFRSF1B. - Puede estimular la proliferación celular e inducir la diferenciación celular.	P01375
TNF-β (LTA)	- Producida por linfocitos. - Actividad citotóxica para una amplia gama de células tumorales. - Se une a TNFRSF1A, TNFRSF1B y TNFRSF14 (HVEM).	P01374
Interferones		
INF-γ (IFNG)	- Interferón tipo II producido por células inmunitarias como células T y NK. - Activa la respuesta antimicrobiana, antiviral y antitumoral. - Señaliza a través de la vía JAK-STAT. - Mejora la presentación de antígenos y la generación de péptidos para el MHC. - Participa en la regulación de células madre hematopoyéticas.	P01579
IFN-α (IFNA1)	- Producido por macrófagos. - Actividad antiviral.	P01562
Quimioquinas		
MCP-1 (CCL2)	- Factor quimiotáctico para monocitos y basófilos, pero no para neutrófilos o eosinófilos. - Podría estar involucrado en el reclutamiento de monocitos en la pared arterial durante el proceso de enfermedad de la aterosclerosis.	P13500
MIP-1α (CCL3)	- Propiedades inflamatorias y quimiotácticas. - Uno de los principales factores supresores del VIH producidos por las células T CD8+.	P10147
MIP-1β (CCL4)	- Propiedades inflamatorias y quimiotácticas. - Se une al correceptor CCR5. - Uno de los principales factores supresores del VIH producidos por las células T CD8+.	P13236

IL-8 (CXCL8)	- Factor quimiotáctico para neutrófilos, basófilos y células T, pero no a monocitos. - Papel importante en la activación de neutrófilos. - Liberado en respuesta a un estímulo inflamatorio.	P10145
IP-10 (CXCL10)	- Factor quimiotáctico para monocitos y linfocitos T. - Importante durante infecciones virales al activar y dirigir células inmunitarias hacia los sitios infectados.	P02778

Notas. El nombre del biomarcador se ha representado como: nombre utilizado en el estudio (símbolo oficial). *****Se ha utilizado la fuente UniProt (Consortium, 2023) para obtener la información referente a cada una de las proteínas. *Abreviaturas*: G-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos (de sus siglas en inglés "*granulocyte colony-stimulating factor*"); CSF3, factor estimulante de colonias 3 (de sus siglas en inglés "*colony stimulating factor 3*"); GM-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (de sus siglas en inglés "*granulocyte macrophage colony-stimulating factor*"); CSF1, factor estimulante de colonias 1 (de sus siglas en inglés "*colony stimulating factor 1*"); IL-1β/IL1B, interleuquina 1 beta; IL-2/IL2, interleuquina 2; IL-4/IL4, interleuquina 4; IL-5/IL5, interleuquina 5; IL-6/IL6, interleuquina 6; IL-10/IL10, interleuquina 10; IL12p70, interleuquina 12p70 (heterodímero p70 de la interleuquina 12); IL12B, interleuquina 12 subunidad beta; IL-13/IL13, interleuquina 13; IL-17A/IL17A, interleuquina 17A; IL-18/IL18, interleuquina 18; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa (de sus siglas en inglés "*tumor necrosis factor alpha*"); TNF, factor de necrosis tumoral (de sus siglas en inglés "*tumor necrosis factor*"); TNF-β, factor de necrosis tumoral beta (de sus siglas en inglés "*tumor necrosis factor beta*"); LTA, linfotoxina alfa (de sus siglas en inglés "*tymphotoxin-alpha*"); IFN-γ /IFNG, interferón gamma; IFN-α, interferón alfa; IFNA1, interferón alfa 1; MCP-1, proteína quimioatrayente de monocitos 1 (de sus siglas en inglés "*monocyte Chemoattractant Protein-1*"); CCL2, ligando 2 de quimioquinas con motivo C-C (de sus siglas en inglés "*C-C motif chemokine 2*"); MIP-1α, proteína inflamatoria de los macrófagos de tipo 1 alfa (de sus siglas en inglés "*macrophage inflammatory protein-1 alpha*"); CCL3, ligando 3 de quimioquinas con motivo C-C (de sus siglas en inglés "*C-C motif chemokine 3*"); MIP-1β, proteína inflamatoria de los macrófagos de tipo 1 beta (de sus siglas en inglés "*macrophage inflammatory protein-1 beta*"); CCL4, ligando 4 de quimioquinas con motivo C-C (de sus siglas en inglés "*C-C motif chemokine 4*"); IL-8, interleuquina 8; CXCL8, ligando 8 de quimioquina con motivo C-X-C (de sus siglas en inglés "*C-X-C Motif Chemokine Ligand 8*); IP-10, proteína 10 inducible por interferón-gamma (de sus siglas en inglés "*Interferon-gamma inducible Protein 10kDa*"); CXCL10, ligando 10 de quimioquina con motivo C-X-C (de sus siglas en inglés "*C-X-C Motif Chemokine Ligand 10*").

La implementación de la TAR conlleva a una normalización en los niveles de las IL-4, IL-6 e IL-10, cercanos a los de individuos no infectados por VIH (Akase et al., 2017; Osuji et al., 2018). Sin embargo, citoquinas proinflamatorias como TGF-β y TNF-α (TNF), no experimentan una normalización completa después de 1 año de tratamiento (Osuji et al., 2018). Por tanto, a pesar de la TAR, no se logra reducir completamente la respuesta inflamatoria, manteniéndose un estado inmunológico crónico de baja intensidad en PVIH en comparación con individuos no infectados (Hileman & Funderburg, 2017; Zicari et al., 2019).

La activación inmunológica crónica por la infección por VIH es además un factor que acelera la senescencia celular del sistema inmune o inmunosenescencia. La senescencia celular es un mecanismo de control que detiene de forma permanente e irreversible el crecimiento de células premalignas, contribuyendo así en la prevención de la formación y desarrollo de tumores. En este proceso, las células cambian fenotípicamente y pasan a secretar componentes específicos, que son moléculas asociadas a un fenotipo secretor asociado a senescencia (SASP, de sus siglas en inglés "*Senescence-Associated Secretory Phenotype*").

Sin embargo, mientras que es un mecanismo beneficioso que permite reparar el tejido dañado y evitar el desarrollo de tumores, promueve el envejecimiento del entorno tisular adyacente (Coppé et al., 2010; Cuollo et al., 2020; Gorgoulis et al., 2019).

Biomarcadores asociados a envejecimiento prematuro

El SASP se caracteriza por la liberación de señales proinflamatorias y factores de crecimiento, entre otros, por parte de células senescentes, para la reparación de tejidos y órganos. Entre las citoquinas asociadas al SASP, destacan el TNF-α (TNF), IL-1β, IL-6, IL-8 (CXCL8) y MCP-1 (CCL2) (Freund et al., 2010; Tchkonia et al., 2013). Asimismo, se incluyen otros factores solubles como interleuquinas (IL-7 o IL-13), quimioquinas (MCP-4 o MIP-1α (CCL3)) y factores de crecimiento (EGF, VEGF o HGF), que desempeñan un papel crucial en la inflamación y la comunicación entre células (Coppé et al., 2010). El mantenimiento de este fenotipo senescente de manera prolongada puede tener efectos

adversos, como la disfunción generalizada de los órganos y la tumorigénesis (Gasek et al., 2021; Lee & Schmitt, 2019; Wyld et al., 2020).

La **Tabla 2** recoge las citoquinas inflamatorias asociadas al fenotipo SASP.

Tabla 2. Citoquinas inflamatorias SASP –Biomarcadores asociados a envejecimiento prematuro

Biomarcador	Papel de citoquinas inflamatorias en senescencia - SASP	FUENTE
Factores estimuladores de colonias		
G-CSF (CSF3)	- Citoquina descrita dentro del perfil secretor de células senescentes, específicamente es secretada en niveles elevados por fibroblastos senescentes.	(Coppé et al., 2010)
GM-CSF (CSF1)	- Citoquina descrita dentro del perfil secretor de células senescentes, específicamente es secretada en niveles elevados por fibroblastos senescentes.	(Coppé et al., 2010)
Citoquinas		
IL-1β (IL1B)	- Citoquina descrita dentro del perfil secretor de células senescentes, específicamente es secretada por células endoteliales senescentes, fibroblastos y células epiteliales senescentes inducidas por quimioterapia. - Puede influir en células cercanas a través de receptores de superficie celular, desencadenando vías de señalización específicas.	(Coppé et al., 2010)
IL-6 (IL6)	- Citoquina descrita dentro del perfil secretor de células senescentes. - Se considera la citoquina SASP más prominente. - Asociada a senescencia inducida por daño al ADN y estrés oncogénico en queratinocitos, melanocitos, monocitos, fibroblastos y células epiteliales. - Sus niveles se asocian con el proceso de envejecimiento.	(Coppé et al., 2010; Ershler, 2003; Li et al., 2014)
IL-13 (IL13)	- Citoquina descrita dentro del perfil secretor de células senescentes. - Sus niveles se asocian con el proceso de envejecimiento. - Promueve la producción de especies reactivas de oxígeno en células epiteliales de las vías respiratorias humanas.	(Coppé et al., 2010; Dickinson et al., 2016; Li et al., 2014)
IL-18 (IL18)	- Citoquina inductora de senescencia en fibroblastos pulmonares.	(Zhang et al., 2019)

TNF-α (TNF)	- Citoquina secretada por células T-*helper* tipo I. - Inductora de senescencia en células tumorales.	(Braumüller et al., 2013)
TNF-β (LTA)	- Aunque no se encuentra entre las citoquinas SASP más reconocidas, esta citoquina puede estar asociada con el inicio y la progresión de la inflamación crónica y la tumorigénesis.	(Gubernatorova et al., 2021)
INF-γ (IFNG)	- Citoquina secretada por células T-*helper* tipo I. - Inductora de senescencia en células tumorales.	(Braumüller et al., 2013)
Quimioquinas		
MCP-1 (CCL2)	- Citoquina descrita dentro del perfil secretor de células senescentes, específicamente considerada componente del SASP de las células musculares lisas vasculares. - Se ha observado que su producción por células senescentes exacerba la senescencia.	(Gardner et al., 2015; Jin et al., 2016)
MIP-1α (CCL3)	- Citoquina descrita dentro del perfil secretor de células senescentes, específicamente considerada componente del SASP de las células musculares lisas vasculares.	(Coppé et al., 2010; Gardner et al., 2015)
MIP-1β (CCL4)	- Citoquina descrita dentro del perfil secretor de células senescentes, específicamente considerada componente del SASP de las células musculares lisas vasculares.	(Coppé et al., 2010; Gardner et al., 2015)
IL-8 (CXCL8)	- Citoquina descrita dentro del perfil secretor de la mayoría de las células senescentes.	(Coppé et al., 2010)
IP-10 (CXCL10)	- Citoquina descrita dentro del perfil secretor de células senescentes, específicamente hepatocitos senescentes.	(Zang et al., 2019)

Notas. El nombre del biomarcador se ha representado como: nombre utilizado en el estudio (símbolo oficial). *Abreviaturas*: G-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos (de sus siglas en inglés "*granulocyte colony-stimulating factor*"); CSF3, factor estimulante de colonias 3 (de sus siglas en inglés "*colony stimulating factor 3*"); GM-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (de sus siglas en inglés "*granulocyte macrophage colony-stimulating factor*"); CSF1, factor estimulante de colonias 1 (de sus siglas en inglés "*colony stimulating factor 1*"); IL-1β/IL1B, interleuquina 1 beta; IL-6/IL6, interleuquina 6; IL-13/IL13, interleuquina 13; IL-18/IL18, interleuquina 18; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa (de sus siglas en inglés "*tumor necrosis factor alpha*"); TNF, factor de necrosis tumoral (de sus siglas en inglés "*tumor*

necrosis factor"); TNF-β, factor de necrosis tumoral beta (de sus siglas en inglés "*tumor necrosis factor beta*"); LTA, linfotoxina alpha (de sus siglas en inglés "*tymphotoxin-alpha*"); IFN-γ/IFNG, interferón gamma; IFN-α/IFNA1, interferón alfa 1; MCP-1, proteína quimioatrayente de monocitos 1 (de sus siglas en inglés "*monocyte Chemoattractant Protein-1*"); CCL2, ligando 2 de quimioquinas con motivo C-C (de sus siglas en inglés "*C-C motif chemokine 2*"); MIP-1α, proteína inflamatoria de los macrófagos de tipo 1 alfa ("*macrophage inflammatory protein-1 alpha*"); CCL3, ligando 3 de quimioquinas con motivo C-C (de sus siglas en inglés "*C-C motif chemokine 3*"); MIP-1β, proteína inflamatoria de los macrófagos de tipo 1 beta (de sus siglas en inglés "*macrophage inflammatory protein-1 beta*"); CCL4, ligando 4 de quimioquinas con motivo C-C (de sus siglas en inglés "*C-C motif chemokine 4*"); IL-8, interleuquina 8; CXCL8, ligando de quimioquina 8 con motivo C-X-C (de sus siglas en inglés "*C-X-C Motif Chemokine Ligand 8*"); IP-10, proteína 10 inducible por interferón-gamma (de sus siglas en inglés "*Interferon-gamma inducible Protein 10kDa*"); CXCL10, ligando 10 de quimioquina con motivo C-X-C (de sus siglas en inglés "*C-X-C Motif Chemokine Ligand 10*").

Las infecciones virales, producen senescencia inducida por virus (SIV), indistinguible de otras formas de senescencia celular y que está acompañado de la producción del SASP (Lee et al., 2021). En el contexto de la infección por VIH, las PVIH experimentan un proceso de envejecimiento prematuro en comparación con la población general, que es exacerbado por el estado inflamatorio crónico de baja intensidad que no se consigue reducir completamente con la TAR (De Pablo-Bernal et al., 2016; Guaraldi et al., 2011). Además, las PVIH presentan una expresión elevada de citoquinas asociadas al SASP, incluyendo IL-6, IL-1β, IL-7 e interleuquina 15 (IL-15) (Freeman et al., 2016; Tasca et al., 2012).

1.1.7. Riesgo de desarrollo de cáncer asociado a la infección por VIH

Respuestas inmunitarias desreguladas o exacerbadas pueden contribuir a la aparición y desarrollo de tumores. Algunos virus, conocidos como virus oncogénicos, tienen la capacidad de favorecer per se la aparición de tumores (White et al., 2022). De hecho, alrededor del 20% de los cánceres en humanos son causados por agentes infecciosos, y aproximadamente el 15% de estos se puede atribuir a infecciones virales (White et al., 2014).

En cuanto al VIH, en sí no causa directamente cáncer. Sin embargo, la infección por VIH debilita el sistema inmunitario, lo que resulta en un mayor riesgo de desarrollo de diversos tipos de cáncer en las PVIH, conocidos como cánceres asociados a VIH, en comparación con la población general. Los más comunes son el sarcoma de Kaposi, el linfoma de Hodgkin y el cáncer de cérvix, pero existen otros no definitorios de SIDA que pueden afectar al hígado, la boca, la faringe, los pulmones, entre otros (Meijide et al., 2017; Yarchoan & Uldrick, 2018). De hecho, se ha postulado, que el VIH por sí mismo podría ser un factor de riesgo independiente que contribuye al desarrollo de cáncer (Lee et al., 2016), al igual que la disminución del sistema inmunitario, la inmunosenescencia y las coinfecciones con otros virus oncogénicos (Frega et al., 2020).

Biomarcadores asociados a riesgo de desarrollo de cáncer

Los puntos de control inmunitario (PCI) son mecanismos esenciales del sistema inmunitario que regulan la activación de las células T, previniendo respuestas inmunitarias exacerbadas y la autoinmunidad (Funes et al., 2019). Los PCI se activan cuando proteínas específicas en la superficie de las células T se unen a proteínas específicas de células presentadoras de antígenos (CPA) (**Figura 3**) (INC, 2022; Wykes & Lewin, 2018). La interacción de estas proteínas, conocidas como proteínas asociadas a PCI, envía señales que pueden activar las células T o, en su defecto, suprimir su respuesta. Esto permite una correcta respuesta inmunitaria, manteniendo la auto-tolerancia y controlando su duración, reduciendo así los posibles daños en los tejidos del huésped (**Figura 3**) (INC, 2022; Wykes & Lewin, 2018). Una activación persistente de células T puede inducir su agotamiento celular, caracterizado por la pérdida gradual de las funciones efectoras de las células T y de su capacidad de autorrenovación, asociándose de forma indirecta a la aparición de tumores (Chow et al., 2022).

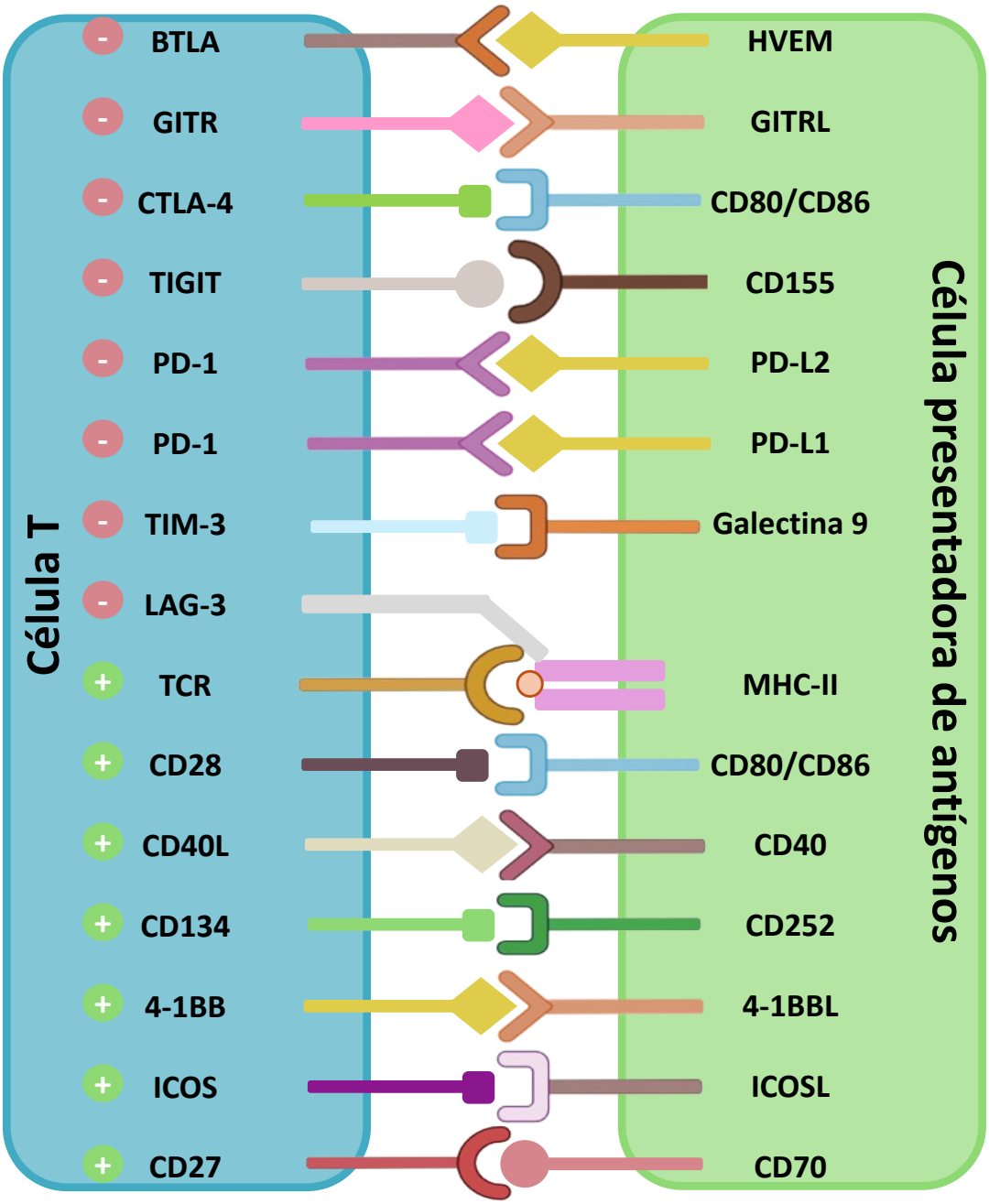


Figura 3. **Regulación de la respuesta inmunitaria a través de PCI: interacciones entre células T y CPA.** Modificada de Wikes et al. (2018) (Wykes & Lewin, 2018). *Abreviaturas:* BTLA, asociado a linfocitos B y T (de sus siglas en inglés "*B And T lymphocyte associated*"); HVEM, mediador de entrada del virus herpes (de sus siglas en inglés "*Herpes virus entry mediator*"); GITR, proteína relacionada con TNFR inducida por glucocorticoides humanos(de sus siglas en inglés "*Glucocorticoid-induced TNF receptor-related protein*"); GITRL, ligando de GITR (de sus siglas en inglés "*GITR ligand*"); CTLA-4, antígeno 4 de los linfocitos T citotóxicos (de sus siglas en inglés "*Cytotoxic t-lymphocyte antigen 4*"); CD80, clúster de diferenciación 80 (de sus siglas en inglés "*Cluster of*

differentiation 80”); CD86, clúster de diferenciación 86 (de sus siglas en inglés “*Cluster of differentiation 86”);* TIGIT, inmunorreceptor de células T con inmunoglobulina y dominio ITIM (de sus siglas en inglés “*T cell immunoreceptor with immunoglobulin and ITIM domain”);* CD155, clúster de diferenciación 155 (de sus siglas en inglés “*Cluster of differentiation 155”);* PD-1, proteína 1 de muerte celular programada (de sus siglas en inglés “*Programmed cell death protein 1”);* PD-L2, ligando 2 de muerte celular programada (de sus siglas en inglés “*Programmed cell death 1 ligand 2”);* PD-L1, ligando 1 de muerte celular programada (de sus siglas en inglés “*Programmed cell death 1 ligand 1”);* TIM-3, dominio de inmunoglobulina y dominio 3 de mucina de células T (de sus siglas en inglés “*T-cell immunoglobulin and mucin domain-3”);* LAG-3, gen de activación de linfocitos tipo 3 (de sus siglas en inglés “*Lymphocyte-activation gene 3”);* TCR, receptor de células T (de sus siglas en inglés “*T cell receptor”);* CD28, clúster de diferenciación 28 (de sus siglas en inglés “*Cluster of differentiation 28”);* MHC-II, complejo mayor de histocompatibilidad II (de sus siglas en inglés “*Major histocompatibility complex II”);* CD40L, ligando de CD40 (de sus siglas en inglés “*CD40 ligand”);* CD40, clúster de diferenciación 40 (de sus siglas en inglés “*Cluster of differentiation 40”);* CD134, clúster de diferenciación 134 (de sus siglas en inglés “*Cluster of differentiation 134”);* CD252, clúster de diferenciación 252 (de sus siglas en inglés “*Cluster of differentiation 252”);* 4-1BBL, ligando de 4-1BB (de sus siglas en inglés “*4-1BB ligand”);* ICOS, coestimulador inducible de células T (de sus siglas en inglés “*Inducible T-cell costimulator”);* ICOS-L, ligando de ICOS (de sus siglas en inglés “*ICOS ligand”);* CD27, clúster de diferenciación 27 (de sus siglas en inglés “*Cluster of differentiation 27);* CD70, clúster de diferenciación (de sus siglas en inglés “*Cluster of differentiation 70”)*; CPA, célula presentadora de antígenos.

Las proteínas de los PCI pueden encontrarse tanto asociados a la membrana plasmática como en forma soluble (Gu et al., 2018). Aunque se ha prestado mayor atención a las asociadas a membrana en términos de investigación y aplicación, los niveles plasmáticos de la forma soluble desempeñan un papel crucial como potenciales biomarcadores. De hecho, la variación en sus niveles plasmáticos está estrechamente vinculada al inicio y la progresión de distintos tipos de tumores, por lo que pueden ser utilizados como biomarcadores potenciales para el diagnóstico y pronóstico de desarrollo del cáncer (Chakrabarti et al., 2019; Dong et al., 2020; Gu et al., 2018).

La **Tabla 3** recoge las proteínas más estudiadas relacionadas con los PCI. Algunas de estas proteínas, como CD152 (CTLA-4) y CD28, comparten ligandos y compiten por estos,

desencadenando distintos efectos sobre las células T (Van Coillie et al., 2020). Aunque las interacciones entre proteínas asociadas a PCI suelen afectar a las células T, en el caso de ciertas proteínas como B7H6 puede no ser así. Esta molécula en concreto se expresa en células tumorales e interactúa con las células asesinas naturales (NK, de sus siglas en inglés"*Natural Killer*") donde se encuentra expresado su ligando.

Tabla 3. Proteínas asociadas a PCI – Biomarcadores asociados a riesgo de desarrollo de cáncer.

Biomarcador	LOCALIZACIÓN	LIGANDO	EFECTO EN CÉLULAS T	FUENTE
Superfamilia inmunoglobulinas (IgSF)				
IgSF-B7				
CD80	Células B, monocitos, células T	CD152 (CTLA-4)	Inhibición	(Van Coillie et al., 2020)
		CD28	Coestimuladora	
ICOS-L	Células B, macrófagos, células dendríticas	ICOS	Coestimuladora	(Roussel & Vinh, 2021)
PD-L1 (CD274)	Células T, células NK, células B, monocitos, células cancerosas	PD-1 (PDCD1)	Inhibición	(Salmaninejad et al., 2019)
PD-L2 (PDCD1LG2)	Células dendríticas, células B, macrófagos, monocitos	PD-1 (PDCD1)	Inhibición	(Latchman et al., 2001)
B7H6 (NCR3LG1)	Superficie de las células tumorales	NKp30	NA	(Gutierrez-Franco et al., 2018)
CD276	Células T, células NK, células dendríticas, macrófagos, monocitos	Sin ligando específico	Bimodal	(S. Liu et al., 2021)
VISTA (VSIR)	Neutrófilos, eosinófilos, basófilos, células dendríticas, células T, macrófagos asociados a tumor	VSIG3	Inhibición	(J. Wang et al., 2019)
IgSF-CD28				

CD28	Células T reguladoras	CD80 CD86	Coestimuladora	(Van Coillie et al., 2020)
PD-1 (PDCD1)	Células T, células B, células NK, monocitos	PD-L1 (CD274) PD-L2 (PDCD1LG2)	Inhibición	(Boussiotis et al., 2014)
BTLA	Células B, células T	HVEM	Inhibición	(Gaikwad et al., 2022)
CD152 (CTLA4)	Células T reguladoras, células B, células NK	CD80 CD86	Inhibición	(Van Coillie et al., 2020)
IgSF-CD2				
CD48	Células T, células B	CD244	NA	(Brown et al., 1998)
IgSF-no determinada				
CD47	Macrófagos, monocitos	SIRPα	NA	(Matlung et al., 2017)
LAG-3	Células T, células NK, células B, células dendríticas	MHC-II	Inhibición	(Chocarro et al., 2021)
Familia TIM				
TIM-3 (HAVCR2)	Células dendríticas, monocitos, células T	Galectina 9	Inhibición	(Das et al., 2017)
TIM-4 (TIMD4)	Células dendríticas, macrófagos	TIM-4L	Inhibición	(Rodriguez-Manzanet et al., 2009)
		TIM-1	Coestimuladora	
Familia TNF/RSF				
CD137/4-1BB (TNFRSF9)	Células T, Células NK, algunos neutrófilos	4-1BBL (TNFSF9)	Coestimuladora	(Menk et al., 2018)
CD27	Células T	CD70	Coestimuladora	(Hintzen et al., 1994)
GITR (TNFRSF18)	Células T	GITRL	Inhibición	(Huang et al., 2019)

HVEM (TNFRSF14)	Células T, células B, células mieloides	BTLA	Inhibición	(Gaikwad et al., 2022)
CD134 (TNFRSF4)	Células T, células NK, neutrófilos	CD252 (TNFSF4)	Coestimuladora	(Croft et al., 2009)
Familia S100				
S100A8/A9	NA	Receptor de reconocimiento de patrones	Coestimuladora	(Gebhardt et al., 2006)
Enzima				
IDO (IDO1)	Interior celular	Triptófano	Inhibición	(Uyttenhove et al., 2003)

Notas. El nombre del biomarcador se ha representado como: nombre utilizado en el estudio (símbolo oficial). *Abreviaturas*: IgSF, superfamilia de inmunoglobulinas (de sus siglas en inglés "*inmunoglobulin superfamily*"); CD80, clúster de diferenciación 80 (de sus siglas en inglés "*cluster of differentiation 80")*; ICOS-L, ligando de ICOS (de sus siglas en inglés "*ICOS ligand");* PD-L1*,* ligando 1 de muerte celular programada (de sus siglas en inglés "*programmed cell death 1 ligand 1*"); CD274*,* clúster de diferenciación 274 (de sus siglas en inglés "*cluster of differentiation 274*"); PD-L2/ PDCD1LG2, ligando 2 de muerte celular programada (de sus siglas en inglés "*programmed cell death 1 ligand 2*"); B7H6, B7 homólogo 6 (de sus siglas en inglés "*B7 homolog 6*"); NCR3LG1, ligando 1 del receptor 3 desencadenante de citotoxicidad natural (de sus siglas en inglés "*Natural cytotoxicity triggering receptor 3 ligand 1"*)*;* CD276, clúster de diferenciación 276 (de sus siglas en inglés "*cluster of differentiation 276*"); VISTA, Supresor de la activación de linfocitos T con dominio variable de inmunoglobulina (de sus siglas en inglés "*v-domain Ig suppressor of T cell activation*"); VSIR, receptor inmunorregulador del conjunto V (de sus siglas en inglés "*v-set immunoregulatory receptor*"); CD28, clúster de diferenciación 28 (de sus siglas en inglés "*cluster of differentiation 28");* PD-1/PDCD1, proteína 1 de muerte celular programada (de sus siglas en inglés "*programmed cell death 1*"); BTLA, atenuador de linfocitos B y T (de sus siglas en inglés "*B And T lymphocyte associated");* CD152, clúster de diferenciación 152 (de sus siglas del inglés "*cluster of differentiation 152*"); CTLA-4, antígeno 4 de linfocitos T citotóxicos (de sus siglas en inglés "*Cytotoxic t-lymphocyte antigen 4");* CD48, clúster de diferenciación 48 (de sus siglas en inglés "*cluster of differentiation 48*"); CD244, clúster de diferenciación 244 (de sus siglas en inglés "*cluster of differentiation 244*"); CD47, clúster de diferenciación 47 (de sus siglas en inglés "*cluster of differentiation 47*"); SIRPα, proteína alfa reguladora de la señal (de sus siglas en inglés "*signal regulatory protein α"*); LAG-3, gen de activación de linfocitos

tipo 3 (de sus siglas en inglés "*lymphocyte-activation gene 3*"); MHC-II, complejo mayor de histocompatibilidad II (de sus siglas en inglés "*major histocompatibility complex II*"); TIM-3, dominio de inmunoglobulina y dominio 3 de mucina de células T (de sus siglas en inglés "T-cell immunoglobulin mucin-3"); HAVCR2, receptor celular 2 del virus de la hepatitis A (de sus siglas en inglés "*hepatitis A virus cellular receptor 2*"); TIM-4/TIMD4, dominio de inmunoglobulina y dominio 4 de mucina de células T (de sus siglas en inglés "*T-cell immunoglobulin mucin-4*"); TIM-4L, ligando TIM-4 (de sus siglas en inglés "*ligand TIM-4*"); TIM-1, dominio de inmunoglobulina y dominio 1 de mucina de células T (de sus siglas en inglés ""*T-cell immunoglobulin mucin-1*"); CD137, clúster de diferenciación 137 (de sus siglas en inglés "*cluster of differentiation 137*"); 4-1BBL, ligando de 4-1BB (de sus siglas en inglés "*ligand 4-1BB*"); TNFRSF9, miembro 9 de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral (de sus siglas en inglés "*tumor necrosis factor receptor superfamily member 9*"); CD27, clúster de diferenciación 27 (de sus siglas en inglés "*cluster of differentiation 27*"); CD70, clúster de diferenciación 70 (de sus siglas en inglés "*cluster of differentiation 70*"); GITR, proteína relacionada con TNFR inducida por glucocorticoides humanos(de sus siglas en inglés "glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor"); GITR-L, ligando de GITR (de sus siglas en inglés "ligand GITR"); TNFRSF18, miembro 9 de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral (de sus siglas en inglés "*tumor necrosis factor receptor superfamily member 18*"); HVEM, mediador de entrada del virus herpes (de sus siglas en inglés "*herpes virus entry mediator*"); TNFRSF14, miembro 14 de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral (de sus siglas en inglés "*tumor necrosis factor receptor superfamily member 14*"); CD134, clúster de diferenciación 134 (de sus siglas en inglés "*cluster of differentiation 134*"); TNFRSF4, miembro 4 de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral (de sus siglas en inglés "*tumor necrosis factor receptor superfamily member 4*"); TNFSF4, miembro 4 de la superfamilia de ligandos del factor de necrosis tumoral (de sus siglas en inglés" *tumor necrosis factor ligand superfamily member 4*"); CD252, clúster de diferenciación 252 (de sus siglas en inglés "*cluster of differentiation 252*"); IDO1, indoleamina 2,3-dioxigenasa (de sus siglas en inglés "*indoleamine 2,3-dioxygenase*"); NA, no aplica; NK, naturales asesinas (de sus siglas en ingles "*natural killer*").

El agotamiento de las células T como consecuencia de la activación inmune persistente por la infección por VIH (Eggena et al., 2005; Fenwick et al., 2019), también produce una alteración de la expresión de estas proteínas asociadas a PCI, como PD-1 (PDCD1) y CD152 (CTLA-4), tanto en su forma asociada a membrana como en su forma soluble (W. Li et al., 2022; Wykes & Lewin, 2018).

1.1.8. Enfermedad cardiovascular asociada a la infección por VIH

La enfermedad cardiovascular (ECV) abarca una gran variedad de trastornos que afectan al corazón y los vasos sanguíneos, como la cardiopatía coronaria, las enfermedades cardiovasculares y las trombosis venosas profundas y embolias pulmonares, entre otras (OMS, 2017).

La ECV ocupa el segundo lugar como causa de muerte en PVIH bajo la TAR (Croxford et al., 2017). En comparación con la población general, las PVIH presentan un riesgo de desarrollar ECV entre 1,5 a 2 veces mayor (Feinstein et al., 2019), debido principalmente a la compleja interacción de factores como el tabaquismo, mala alimentación, obesidad y estrés (Hemkens & Bucher, 2014; Martin-Iguacel et al., 2015), con los propios de la infección VIH, tales como la activación inmunológica persistente, la inflamación sistémica, la disfunción endotelial y el aumento de la actividad trombótica, así como la administración prolongada de la TAR, que conlleva al desarrollo de trastornos metabólicos como dislipidemia, la resistencia a insulina y la diabetes (de Gaetano Donati et al., 2010; Di Biagio et al., 2012; Kelesidis & Currier, 2014; Post, 2011) (**Figura 4**).

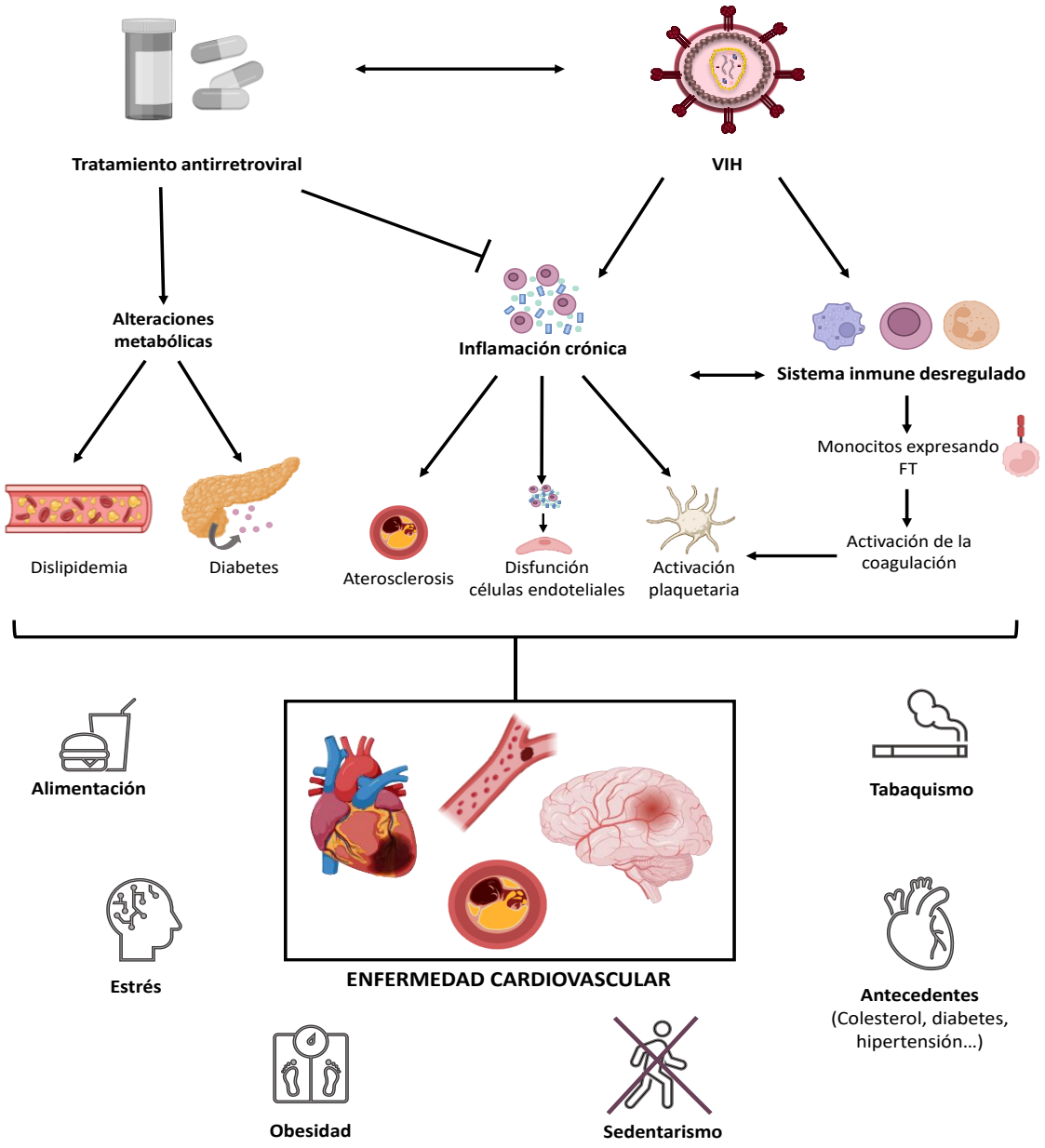


Figura 4. **Factores de riesgo para el desarrollo de ECV en PVIH**. *Abreviaturas:* VIH, virus de la inmunodeficiencia humana; FT, factor tisular; ECV, enfermedad cardiovascular; PVIH, personas con VIH.

En comparación con la población general, se ha descrito que las PVIH también presentan una incidencia más elevada de trombosis arterial y venosa (Bibas et al., 2011; Rokx et al., 2020). Este aumento puede atribuirse a diversas causas, entre las cuales destaca la desregulación del sistema inmunitario y la inflamación crónica inducida por el VIH, incluso en PVIH con TAR. Este estado inflamatorio conlleva a la disfunción de las células

endoteliales, aterosclerosis y activación plaquetaria, generando un aumento de la trombosis arterial. Además, los monocitos activados expresan la proteína procoagulante factor tisular (FT), que puede activar el sistema de coagulación. Por consiguiente, la activación del sistema de coagulación y de las plaquetas puede desencadenar episodios de trombosis venosa (Perkins et al., 2023) (**Figura 4**).

Biomarcadores asociados al desarrollo de enfermedad cardiovascular

La identificación de biomarcadores predictivos detectables en sangre, capaces de predecir el riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares, representa uno de los principales desafíos de la medicina cardiovascular. Aunque aún no se ha establecido un biomarcador universal, existen distintos marcadores cuya alteración está asociada con diversas patologías cardiovasculares, como las troponinas, péptidos natriuréticos y la proteína C reactiva (Gualandro et al., 2019; Martín-Ventura et al., 2009).

Los **péptidos natriuréticos** (BNP, de sus siglas en ingles "*brain natriuretic peptide*"), principalmente sintetizados en los miocitos auriculares y ventriculares, se liberan en respuesta a la elongación celular causada por la sobrecarga de presión o expansión del volumen del ventrículo (Del Ry et al., 2014). Se almacenan en forma pro-BNP y se liberan en dos moléculas: NT-proBNP (Propéptido natriurético cerebral N-terminal, de sus siglas en inglés "*N-terminal probrain natriuretic peptide*"), inactiva, y BNP activo (Salomone OA, 2002). La liberación de NT-proBNP, inducida por daño a los miocitos cardíacos o la hipoxia, se utiliza como marcador de estrés miocárdico (Volpe et al., 2014).

Los niveles circulantes de la **troponina I**, proteína muscular encargada de regular la contracción del músculo cardiaco, son empleados como biomarcador para evaluar el riesgo de desarrollar síndromes coronarios agudos e infarto agudo de miocardio (Duque-Ossa et al., 2023; Soetkamp et al., 2017).

La inflamación crónica juega un papel crucial en el desarrollo y progresión de ECV. Esta inflamación crónica está intrínsecamente ligada a ciertas proteínas y citoquinas con capacidad de modular la respuesta inmunológica y, por ende, influir en la inflamación

asociada con las ECV, estableciendo una conexión directa con eventos cardiovasculares (Bartekova et al., 2018; Golia et al., 2014; Williams et al., 2019). Esta relación entre inflamación y eventos cardiovasculares ha llevado al estudio e identificación de algunas proteínas y citoquinas como posibles indicadores potenciales de riesgo cardiovascular, considerándose como posibles biomarcadores inflamatorios asociados a ECV (Martín-Ventura et al., 2009). En la **Tabla 4** se encuentran recogidos los biomarcadores inflamatorios asociados a ECV más destacados.

Tabla 4. Biomarcadores inflamatorios asociados a ECV.

Biomarcador	Tipo de molécula	Relación ECV	FUENTE
Proteína C reactiva	Proteína sintetizada en el hígado en respuesta a la inflamación sistémica, ampliamente estudiada y utilizada en la práctica clínica	Niveles elevados de proteína C reactiva son indicadores de inflamación cardiovascular, asociado a un mayor riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares.	(Kuppa et al., 2023)
IFN-γ (IFNG)	Citoquina proinflamatoria	Relacionada con aterosclerosis, desempeñando un papel complejo con acciones tanto pro como antiaterogénicas.	(Harvey & Ramji, 2005; Voloshyna et al., 2014)
IL-1β (IL1B) e **IL-18** (IL18)	Citoquinas proinflamatorias, pertenecientes a la familia de interleuquinas 1, estrechamente relacionadas con el inflamasoma.	La activación del inflamasoma se ha asociado a la patogénesis de diversas ECV, como aterosclerosis, infarto de miocardio e insuficiencia cardiaca.	(Pfeiler et al., 2019; van Hout & Bosch, 2018)
TNF-α (TNF)	Citoquina proinflamatoria que se presenta principalmente dos formas, alfa (TNF-α) y beta (TNF-β).	Esta citoquina está relacionada con procesos inflamatorios y puede estar involucrada en algunas ECV, como aterosclerosis, enfermedad coronaria e insuficiencia cardiaca.	(Nash et al., 2019)
IL-6 (IL6)	Citoquina proinflamatoria	Vinculada al desarrollo de ECV. Específicamente, el aumento en la expresión de	(Su et al., 2021)

		esta citoquina se ha asociado con ateroesclerosis, daño cerebrovascular, insuficiencia cardiaca e infarto de miocardio.	
IL-17A (IL17A)	Isoforma A de la interleuquina 17	Puede actuar sobre células vasculares y cardiacas, induciendo procesos inflamatorios, coagulación y trombosis. Además, se ha asociado con la patogénesis de ECV, como son la aterosclerosis y el infarto de miocardio.	(Robert & Miossec, 2017)
IL-8 (CXCL8)	Citoquina proinflamatoria	Relacionada con procesos inflamatorios en las arterias y con la formación de placas de ateroma. Esta citoquina tiene la capacidad de atraer células del sistema inmunitario hacia la zona de la lesión vascular, contribuyendo así a la progresión de aterosclerosis.	(An et al., 2019)
MCP-1 (CCL2)	Molécula de señalización celular	Debido a su actividad quimiotáctica, se ha relacionado con un mayor riesgo de daño cardiovascular, contribuyendo a la formación de placas ateroscleróticas. Además, se ha relacionado con la miocarditis y la lesión isquémica.	(Niu & Kolattukudy, 2009)
Ferritina	Proteína encargada de almacenar, transportar y liberar hierro.	Elevados niveles de ferritina podrían estar relacionados con aterosclerosis y enfermedad coronaria, pudiéndose considerar un factor de riesgo.	(Williams et al., 2002)

Notas. El nombre del biomarcador se ha representado como: nombre utilizado en el estudio (símbolo oficial). *Abreviaturas*: IFN-γ/IFGN, interferón gamma; IL-1β/IL1B, interleuquina 1 beta; IL-18/IL18, interleuquina 18; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa (de sus siglas en inglés "*tumor necrosis factor alpha*"); TNF, factor de necrosis tumoral

(de sus siglas en inglés "*tumor necrosis factor*"); IL-6/IL6, interleuquina 6; IL-17A/IL17A, Interleuquina 17A; IL-8, interleuquina 8; CXCL8, ligando de quimioquina 8 con motivo C-X-C (de sus siglas en inglés "*C-X-C Motif Chemokine Ligand 8*"); MCP-1, proteína quimioatrayente de monocitos 1 (de sus siglas en inglés "*monocyte Chemoattractant Protein-1*"); CCL2, ligando 2 de quimioquinas con motivo C-C (de sus siglas en inglés "*C-C motif chemokine 2*").

Los factores de la **cascada de coagulación** resultan esenciales en el equilibrio de la hemostasia, representando el último eslabón de este proceso fisiológico. Se dividen en dos vías: la intrínseca (XII, XI, IX, VIII) y la extrínseca (Factor von Willebrand (FvW) VII y FT). Además, algunos participan en una vía común en la que convergen la intrínseca y la extrínseca, como los factores X, XIII, V y VII, la protrombina, antitrombina y las proteínas P y S dependientes de vitamina K (Green, 2006).

Alteraciones en los parámetros de coagulación pueden asociarse al desarrollo de patologías protrombóticas o hemorrágicas (Lagrange & Wenzel, 2019). La cascada de coagulación también es importante en procesos ateroscleróticos y lesiones isquémicas lo que hace que sea considerada un mecanismo central de la ECV (Ten Cate et al., 2017).

En el contexto clínico, el producto de degradación de los coágulos formados, conocido como dímero D, es utilizado como biomarcador para respaldar el diagnóstico de coagulopatías. Niveles elevados de dímero D se interpretan como una activación excesiva de la cascada de coagulación y formación de coágulos, asociándose estrechamente a condiciones trombóticas como trombosis venosa profunda o embolia pulmonar (Halaby et al., 2015; Wilbur & Shian, 2012).

El **FvW** previene y controla las hemorragias al participar de manera activa en el proceso de hemostasia, facilitando la adhesión plaquetaria y contribuyendo a la formación del tapón plaquetario. En el contexto de las ECV, su papel es relevante ya que puede afectar a la respuesta trombótica y la formación de coágulos sanguíneos. Niveles elevados en circulación de esta molécula se han asociado con un mayor riesgo de sufrir eventos trombóticos, así como de disfunción endotelial (Shahidi, 2017; Vischer, 2006) (**Figura 5**).

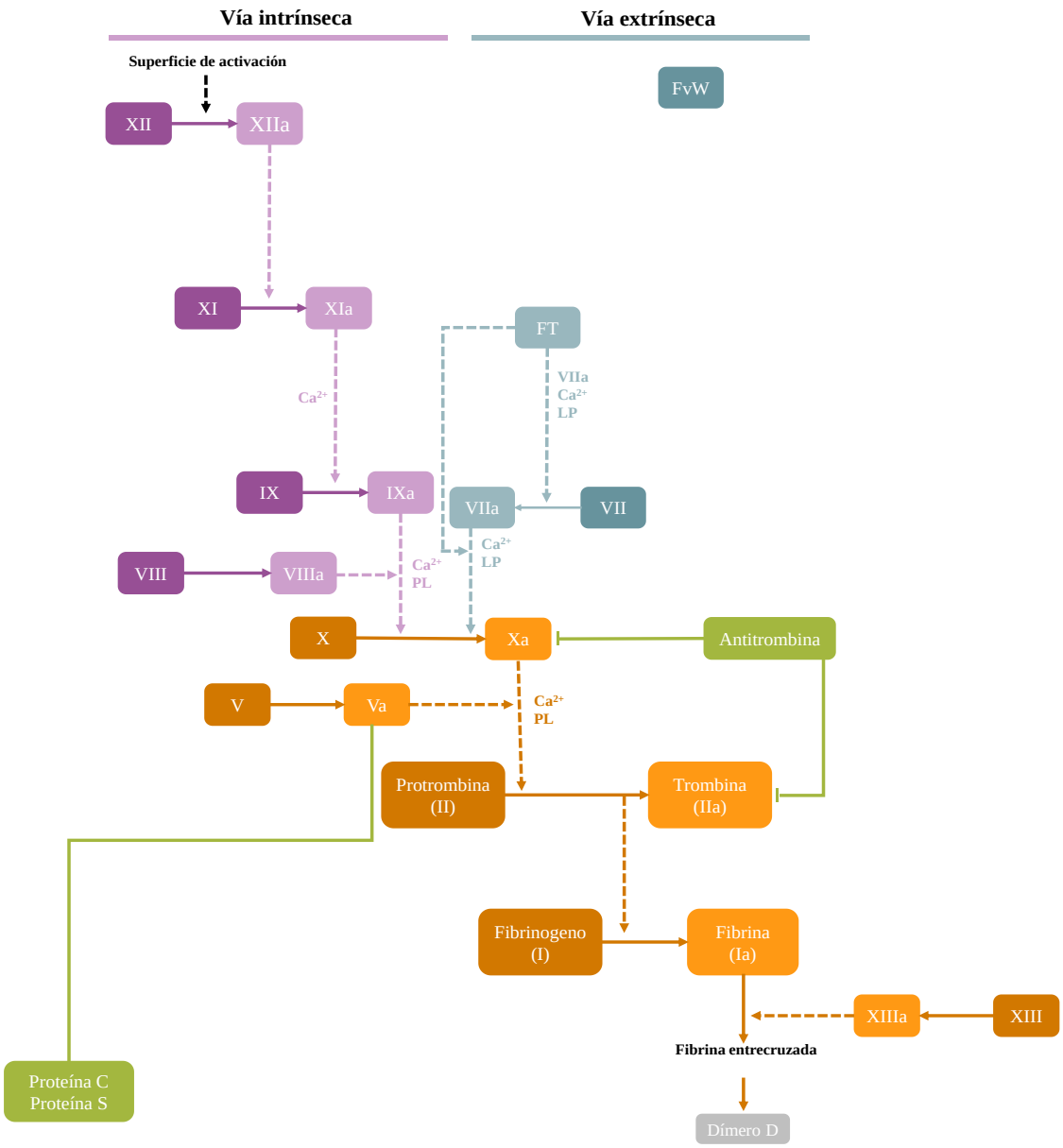


Figura 5. Factores de la cascada de coagulación. *Abreviaturas:* FvW, Factor von Willebrand; FT, factor tisular.

1.2. Virus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2)

1.2.1. Epidemiología del SARS-CoV-2

El coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo-2 (SARS-CoV-2), agente causal de la COVID-19, es el séptimo coronavirus que afecta a humanos (Rauf et al., 2020). Según

la OMS, en 2023, el SARS-CoV-2 ya habría infectado a cerca de 760 millones de personas en todo el mundo, y ha causado un total aproximado de 6,9 millones de muertes (OMS., 2023b).

1.2.2. Aspectos virológicos del SARS-CoV-2

El SARS-CoV-2 pertenece a la familia *Coronaviridae*, subfamilia *Orthocoronavirinae* y género *Betacoronavirus* (Gao et al., 2020; Lai et al., 2020). Es un virus envuelto por una bicapa lipídica en la que se insertan las glucoproteínas estructurales: espícula (S), la membrana (M) y envuelta (E). En el interior del virión, se encuentra la nucleocápside (N) y el material genético del SARS-CoV-2 que consiste en un ARN monocatenario de polaridad positiva (ARNmc+). Además, el genoma viral codifica proteínas no estructurales clave para la replicación y la regulación de la respuesta del huésped (Mousavizadeh & Ghasemi, 2021; Naqvi et al., 2020; Viruses, 2020) (**Figura 6**).

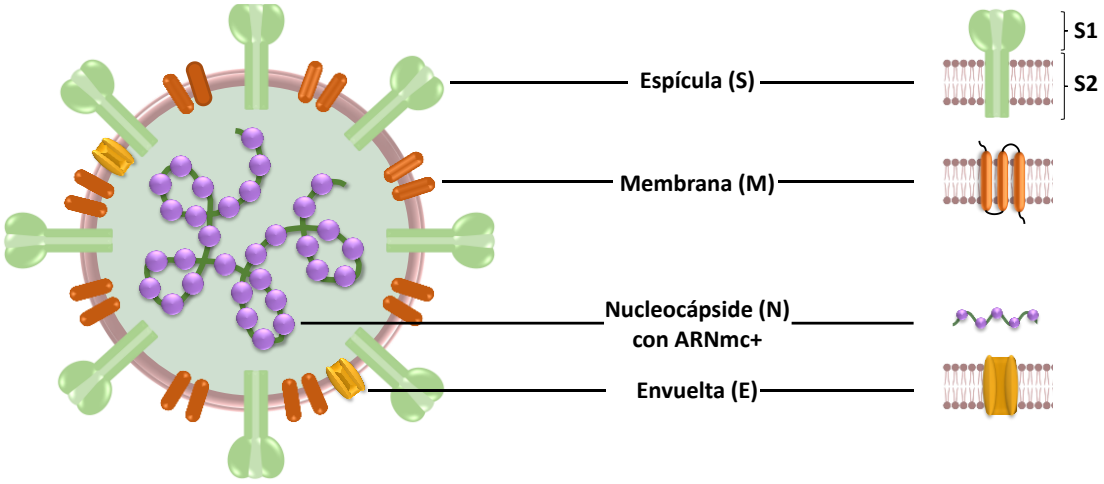


Figura 6. Estructura esquemática de un virión de SARS-CoV-2. *Abreviaturas:* ARNmc+, ácido ribonucleico monocatenario de polaridad positiva.

El genoma del SARS-CoV-2, presenta una longitud aproximada de 30 kb (Rabaan et al., 2020; Wu et al., 2020). Su estructura es similar a otros coronavirus, con extremo 5' y cola poliadenilada en el extremo 3'. Contiene dos marcos abiertos de lectura (ORF, de sus siglas en inglés "*open reading frames*") principales, ORF1a y ORF1b (Li et al., 2020; Mousavizadeh & Ghasemi, 2021), que contienen al menos once genes, que codifican

para las proteínas no estructurales (ORF1a y ORF1b), estructurales principales (S, E, M y N) y accesorias (3a, 6, 7a, entre otras) (Mousavizadeh & Ghasemi, 2021) (**Figura 7**).

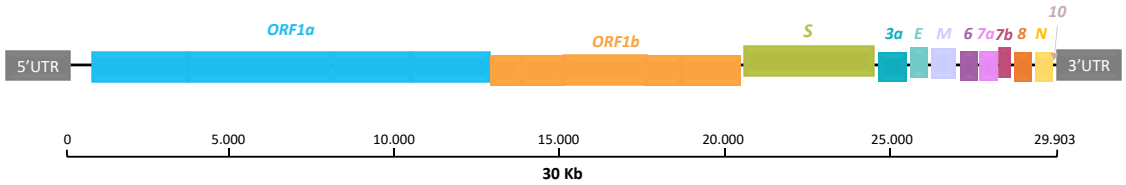


Figura 7. Representación esquemática de la organización del genoma del SARS-CoV-2. *Abreviaturas:* UTR, regiones no traducidas (de sus siglas en inglés "*unstranlated region*"); ORF, marcos abiertos de lectura (de sus siglas en inglés "*open reading frames*").

1.2.3. Transmisión del SARS-CoV-2

La principal forma de propagación del SARS-CoV-2 ocurre a través de la inhalación de partículas suspendidas y aerosoles liberados por personas infectadas al exhalar o estornudar. Sin embargo, se ha sugerido la posibilidad de transmisión a través del contacto indirecto con fómites en superficies cercanas a la persona infectada, aunque no existen suficientes evidencias científicas que respalden esta vía de transmisión (OMS, 2020).

1.2.4. Fisiopatogenia del SARS-CoV-2

La infección por SARS-CoV-2 se desarrolla en las siguientes fases clínicas:

Fase 1. Fase de infección temprana. La infección por SARS-CoV-2 se inicia cuando el SARS-CoV-2 se une mediante su glucoproteína S al receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA2) de células humanas, abundantes en epitelio de pulmón e intestino delgado y endotelio vascular (Siddiqi & Mehra, 2020). Durante esta fase, el virus se replica e instala en el huésped, principalmente en el sistema respiratorio (Jones et al., 2021).

Sistema renina-angiotensina-aldosterona

El sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) es esencial para la regulación fisiológica del organismo y está formado por diferentes enzimas entre las que se encuentra la ECA2. En un individuo sano, esta enzima tiene como función hidrolizar diferentes angiotensinas (Tikellis & Thomas, 2012) en productos que promueven la vasodilatación y tienen efectos antitrombóticos, antiinflamatorios, antifibróticos y antiprofilerativos (Choi et al., 2020). Durante la infección por SARS-CoV-2, el virus utiliza la ECA2 como receptor para infectar a las células, especialmente las células epiteliales del pulmón. Esta interacción, entre el virus y el receptor ECA2, desregula el SRAA al quedar bloqueada ECA2, reduciendo su propia actividad, y como consecuencia favoreciendo un estado proinflamatorio, protrombótico y profibrótico en órganos como el corazón, los pulmones y los riñones (Kuba et al., 2005; Vaduganathan et al., 2020). En consecuencia, la infección por SARS-CoV-2 incrementa el riesgo de complicaciones cardiovasculares, pulmonares y metabólicas asociadas al desequilibrio del SRAA (Beyerstedt et al., 2021; Elshafei et al., 2021; Gao et al., 2022).

Fase 2. Fase pulmonar. Durante esta etapa, la replicación viral continúa, dando lugar a una inflamación principalmente en el pulmón, lo que conduce al desarrollo de neumonía en la mayoría de los pacientes (Siddiqi & Mehra, 2020).

Fase 3. Inflamación y coagulopatía. Esta etapa se desarrolla en una pequeña proporción de individuos con COVID-19, manifestándose como un síndrome de hiperinflamación sistémica. Durante esta fase, se observa una disminución en el número de células T y niveles elevados de citoquinas proinflamatorias. Además, se presentan manifestaciones clínicas como insuficiencia respiratoria o incluso afectación orgánica sistémica (Siddiqi & Mehra, 2020).

1.2.5. Tratamiento de la COVID-19

Las vacunas contra la COVID-19 han demostrado ser una herramienta efectiva en la lucha contra la propagación y desarrollo de la enfermedad, contribuyendo

significativamente a frenar la pandemia (U.S. Department of Health and Human Services (HHS), 2023). En España, la vacunación contra el nuevo coronavirus comenzó el 27 de diciembre de 2020. Dado el suministro limitado de vacunas, se implementaron campañas de vacunación gradual, priorizando a aquellos con mayor riesgo de sufrir complicaciones graves y de estar expuestos al virus (Gobierno de España (GOB), s.f.). Según las directrices científicas, tanto a nivel nacional como internacional, las PVIH fueron identificadas como una población prioritaria (Mullender et al., 2022; Nomah et al., 2022). En la actualidad, la Agencia Europea de Medicamentos (EMA, de sus siglas en inglés "*European Medicines Agency*") ha aprobado siete vacunas preventivas y efectivas contra el SARS-CoV-2, que se dividen en tres categorías: las basadas en ARN mensajero (Pfizer-BioNTech y Moderna), las de subunidades de proteínas virales (Sanofi/GSK, Novavax y HIPRA Human Health) y las de vectores virales (AstraZeneca y Janssen/Johnson&Johnson) (European Medicines Agency (EMA), s.f.).

Además de las vacunas, existen ocho antivirales aprobados por la EMA (EMA, s.f.), que tienen como objetivo controlar la replicación del virus y se han mostrado eficientes para reducir el riesgo de desarrollar síntomas graves de la enfermedad COVID-19.

Impacto a largo plazo de la infección por SARS-CoV-2

Tras resolver la infección, algunos pacientes experimentan secuelas y manifestaciones clínicas que persisten durante semanas, meses o incluso años, independientemente de la gravedad inicial, y que no son explicadas por un diagnóstico alternativo, lo que se ha denominado condición post-COVID-19 (Chen et al., 2022).

Aunque se desconocen los mecanismos potenciales que favorecen el desarrollo de la persistencia de síntomas, se ha planteado la posibilidad, de que un elemento clave podría ser el mantenimiento a lo largo del tiempo del estado inflamatorio alterado (Soriano & Ancochea, 2021), entre otros. De hecho, dos estudios han observado que, incluso meses o años después de la resolución de la infección por SARS-CoV-2, los individuos presentan perfiles alterados de citoquinas inflamatorias, como la IL-8 (CXCL8) (Loretelli et al., 2021; Ren et al., 2023).

1.2.6. Inflamación crónica y envejecimiento prematuro asociado a la infección por SARS-CoV-2

La respuesta inmunitaria desencadenada por la infección por SARS-CoV-2 puede evolucionar en algunos casos hacia una liberación masiva de citoquinas proinflamatorias en la fase aguda (Fajgenbaum & June, 2020), denominada tormenta de citoquinas, que puede desencadenar el síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), fallo multiorgánico y muerte (Jiang et al., 2022; Meyer et al., 2021).

Dicha tormenta de citoquinas podría originarse por una activación excesiva del factor nuclear kappa beta (NF-κB) a través de diversas vías (Zhou et al., 2023). En concreto, este fenómeno resulta en una sobreexpresión de citoquinas y quimioquinas proinflamatorias, como TNF-α (TNF), IL-1β, IL-6 y MCP-1 (CCL2) (Kircheis et al., 2020).

Se desconoce si la desregulación observada en el perfil inflamatorio de citoquinas durante la fase aguda de la infección por SARS-CoV-2 podría mantenerse alterada a lo largo del tiempo. En población general, Wang et al. (2020) observaron una normalización de los niveles plasmáticos de citoquinas pro y antiinflamatorias como IL-2, IL-4, IL-19, TNF-α (TNF) e IFN-γ (IFNG) tres semanas después de la infección por SARS-CoV-2 (Wang et al., 2020), pero otros estudios mostraron discrepancias. Se ha observado niveles elevados de citoquinas inflamatorias, como IL-8 (CXCL8), después de 4,5 meses (Loretelli et al., 2021) y 1 año (Ren et al., 2023) de la infección por SARS-CoV-2 en población general. También se ha observado una desregulación en los niveles de citoquinas plasmáticas, como FGF2, VEGFA, EGF, IL-12p70 (IL12B), IL-13 e IL-6, que puede ser clave en el desarrollo de secuelas y síntomas a medio y largo plazo (Bekbossynova et al., 2023).

La SIV ha sido muy estudiada en el contexto de la COVID-19. Al igual que lo observado en PVIH, el SARS-CoV-2 también induce senescencia y un aumento del SASP (Tripathi et al., 2021). Así, durante la fase aguda de la infección se liberan numerosas citoquinas proinflamatorias, como IL-6, IL-8 (CXCL8) o TNF-α (TNF), entre otras (Lynch et al., 2021). Además, esta inducción de la senescencia celular se intensifica en personas mayores,

que tienen una mayor proporción de células senescentes preexistentes en sus tejidos y una menor capacidad para eliminarlas (Schmitt et al., 2023).

La desregulación del SASP no se limita a la fase aguda de la infección, sino que también se observa en individuos que se han recuperado de la infección por SARS-CoV-2. El estudio realizado por Loretelli et al. (2021) demostró que, tras 4,5 meses desde la infección, los niveles de algunas de estas citoquinas (IL-1β, IL-7, IL-8 (CXCL8), IFN-γ (IFNG) y MIP-1α (CCL3)) eran significativamente mayores respecto a controles no infectados (Loretelli et al., 2021). Asimismo, otros autores confirmaron la existencia de un aumento en los niveles de las citoquinas IL-13, MIP-1α (CCL3), IL-1α e IL-15, asociadas al SASP, después de 6 meses desde la infección (Bekbossynova et al., 2023).

1.2.7. Riesgo de desarrollo de cáncer asociado la infección por SARS-CoV-2

Considerando la capacidad del SARS-CoV-2 para modular vías oncogénicas (Gómez-Carballa et al., 2022), fomentar la inflamación crónica de bajo grado y ocasionar daño tisular, surge la posibilidad de que la infección por SARS-CoV-2 se convierta en un factor de riesgo para la aparición y recurrencia de diversos tipos de tumores (Jafarzadeh et al., 2022; Jahankhani et al., 2023; Y. S. Li et al., 2022; Ogarek et al., 2023). A pesar de esto, aún no se dispone de suficientes evidencias acerca de si la COVID-19 podría tener repercusiones a largo plazo, incrementando el riesgo de cáncer en aquellos individuos sin historial previo de malignidades.

En la población general, se ha observado un aumento de los niveles solubles de proteínas asociadas a PCI durante la fase aguda de la infección por SARS-CoV-2 (Bellesi et al., 2020; W. Li et al., 2022; Shahbaz et al., 2021). Esta desregulación también se ha observado meses después de la resolución de la infección. Individuos recuperados de SARS-CoV-2, mostraban niveles plasmáticos más elevados de PD-1 (PDCD1) comparado con controles no infectados 4,5 meses después de la infección (Loretelli et al., 2021). Además, se ha observado un agotamiento funcional de células T, junto con una mayor expresión de PD-1 (PDCD1), TIM-3 (HAVCR2) y TIGIT, tras 6 y 8 meses desde la infección (Opsteen et al., 2023; Phetsouphanh et al., 2022).

Pero en el caso de poblaciones inmunocomprometidas, como las PVIH, se conoce muy poco sobre la evolución y persistencia de estas alteraciones.

1.2.8. Enfermedad cardiovascular asociada a la infección por SARS-CoV-2

Hasta la fecha, se han descrito una amplia variedad de secuelas y síntomas persistentes en individuos recuperados de la COVID-19, entre las que se encuentran las complicaciones cardiacas incluyendo arritmias, cardiopatías isquémicas o miocarditis (Raman et al., 2022), alteraciones en la cascada de la coagulación (Marzoog, 2022), persistencia de niveles elevados de dímero D (Lehmann et al., 2021; Townsend et al., 2021) y del FvW (Pretorius et al., 2021; Willems et al., 2023; Willems et al., 2022) entre otros. Hallazgos clínicos respaldan estos resultados de laboratorio, mostrando una afectación cardiaca significativa en pacientes recuperados de la COVID-19, incluso en casos leves. Se ha observado que el 78% de los pacientes manifiestan afectación cardiaca en resonancias magnéticas cardiovasculares, con inflamación miocárdica persistente en el 60% de estos (Puntmann et al., 2020), y entre un 15-31% de individuos evidencian lesiones cardiacas (Dennis et al., 2021), pero se desconoce si a medio y largo plazo persisten estas alteraciones y si se reflejan en la desregulación de marcadores de la coagulación.

1.3. Impacto del SARS-CoV-2 en PVIH

La aparición del nuevo coronavirus, SARS-CoV-2, y la consecuente pandemia de COVID-19 no solo ha sacudido el panorama global de la atención sanitaria, sino también ha generado preocupaciones específicas para las PVIH (Jewell et al., 2020; Mc Lean et al., 2021).

Como consecuencia de la pandemia de COVID-19, las metas 95-95-95 para la eliminación del VIH propuestas por la Organización de las Naciones Unidas (ONU) para 2030 se han visto comprometidas. Desde el año 2020, se ha observado una marcada disminución en el número de personas que se han realizado la prueba del VIH y han iniciado tratamiento, así como en la disponibilidad de la profilaxis previa a la exposición. Esta

situación ha dado lugar a un aumento significativo en las nuevas infecciones por VIH y en las muertes relacionadas con el SIDA (Jewell et al., 2020; ONUSIDA, 2020). Estimaciones recientes sugieren que en dos años habrá entre 120.000 y 290.000 nuevas infecciones por VIH, junto con 70.000-150.000 muertes como resultado de esta alteración (Mc Lean et al., 2021).

El aumento en las nuevas infecciones por VIH sugiere la posibilidad de un incremento en el número de PVIH que también se vean afectadas por el SARS-CoV-2. Esto podría favorecer el riesgo potencial de desarrollar comorbilidades a medio-largo plazo derivadas de la infección previa por SARS-CoV-2 en este grupo de población, relacionadas con eventos cardiovasculares, alteraciones del sistema inmune y/o cáncer entre otros. En respuesta, surge la necesidad de llevar a cabo una vigilancia para evaluar el impacto de la infección por SARS-CoV-2 entre las PVIH, con el objetivo de identificar y prevenir posibles comorbilidades a medio-largo plazo (Ssentongo et al., 2021).

1.3.1. Impacto del SARS-CoV-2 en inflamación crónica y envejecimiento prematuro en PVIH

A día de hoy, apenas existe información sobre el impacto a medio y largo plazo del SARS-CoV-2 en el perfil de citoquinas inflamatorias y senescencia en PVIH. Recientemente se ha descrito que después de 4 meses desde la infección por SARS-CoV-2, PVIH mantienen una desregulación significativa de proteínas asociadas a vías inflamatorias e inmunológicas, como CCL18 y CCL3, en comparación con PVIH sin infección previa por SARS-CoV-2 (Kolossváry et al., 2023). En línea con estos hallazgos, Peluso y colaboradores (2022) observaron niveles elevados de citoquinas inflamatorias como IL-6, IP-10 (CXCL10) y TNF-α (TNF), después de 16 semanas de la resolución de la infección por SARS-CoV-2 cuando compararon con un grupo control seronegativo para VIH. En este trabajo, también se observó una relación entre el aumento de los niveles de las citoquinas asociadas a SASP, como IP-10 (CXCL10) y TNF-α (TNF), con un mayor riesgo de desarrollar secuelas post-agudas de la infección por SARS-CoV-2 (Peluso et al., 2022).

1.3.2. Impacto del SARS-CoV-2 en el riesgo de desarrollo de cáncer en PVIH

En PVIH, apenas existe información sobre el impacto del SARS-CoV-2 a medio y largo plazo sobre el desarrollo de cáncer. Hay algunos trabajos que han evaluado los cambios en las proteínas que regulan las proteínas asociadas a PCI como posibles predictores del desarrollo de cáncer, pero los resultados son aún discrepantes. Por un lado, Peluso y colaboradores (2022) observaron que tras 4 meses desde la infección por SARS-CoV-2, las PVIH tenían niveles más altos de expresión de PD-1 (PDCD1) en células T CD4+ en comparación con individuos seronegativos para VIH (Peluso et al., 2022). Además, dentro del grupo formado por las PVIH, niveles más altos de PD-1 estaban asociados con un mayor riesgo de desarrollar secuelas (Peluso et al., 2022). Sin embargo, en PVIH, Kolossváry et al. (2023) no observaron expresión diferencial de proteínas solubles asociadas a PCI como LAG-3, PD-L1 (CD274), PD-L2 (PDCD1L2), TIM-4 (TIMD4) y CD27, entre otros, tras el mismo tiempo desde de la infección por SARS-CoV-2 (Kolossváry et al., 2023).

1.3.3. Impacto del SARS-CoV-2 en la enfermedad cardiovascular en PVIH

Las infecciones por SARS-CoV-2 y VIH están estrechamente vinculadas al desarrollo de ECV. La COVID-19 tiene un pronóstico desfavorable en personas con factores preexistentes de riesgo cardiovascular como hipertensión arterial, diabetes o ECV. Dado este contexto y el alto riesgo de eventos cardiovasculares en PVIH, resulta esencial conocer cómo la sinergia entre ambos virus afecta al desarrollo de enfermedades cardiovasculares en PVIH. Previamente se han reportado complicaciones cardiovasculares significativas, incluyendo infarto y arritmia, durante los tres meses posteriores a la infección por SARS-CoV-2 en dos PVIH (Mazzitelli et al., 2022), así como una asociación entre la COVID-19 y un mayor riesgo de eventos cardiovasculares en el año siguiente desde la infección por SARS-CoV-2 en PVIH (Martín-Iguacel et al., 2024).

1.4. MicroRNAs

Los microRNAs (miARNs) son fragmentos cortos de ARN no codificante, con una longitud de entre 18 y 25 nucleótidos. Desempeñan un papel clave en la regulación de un gran número de procesos biológicos, modulando a más del 60% de los genes que codifican para proteínas y regulando la práctica totalidad de procesos biológicos (Catalanotto et al., 2016; Lu & Rothenberg, 2018). Esta regulación tiene lugar a nivel post-transcripcional mediante la interacción entre los nucleótidos del miARN y la región no traducida del extremo 3' (3'UTR) del ARN mensajero (ARNm). Un solo miARN puede modular la expresión de varios e incluso cientos genes diana, y viceversa, donde un gen puede ser regulado por múltiples miARN.

1.4.1. Biogénesis de los miARNs

Existen dos vías de procesamiento para los miARNs: la ruta canónica, que ha demostrado ser la más aceptada hasta la fecha, y la no canónica (O'Brien et al., 2018).

De acuerdo con esta ruta, el proceso comienza en el núcleo de la célula con la transcripción del ADN, generando un largo transcrito denominado miARN primario o pri-miARN, mediante la ARN polimerasa II/III. Este transcrito adopta una estructura en forma de horquilla generando un ARN bicatenario primario. A continuación, una enzima RNAsa III nuclear (DROSHA), elimina las bases de la horquilla del pri-miARN dando lugar a una nueva molécula conocida como pre-miARN. Este pre-miARN es transportado desde el núcleo al citosol a través del complejo exportina 5 (XPO5)/RanGTP. Una vez en el citoplasma, el pre-microARN es anclado y procesado por la enzima DICER, una ribonucleasa de la familia de las ARNasas III, que escinde el bucle de la estructura de horquilla del pre-microARN, originando el miARN maduro de doble cadena con un tamaño de 21-24 nucleótidos (O'Brien et al., 2018).

Tras el procesamiento, una de las hebras del miARN maduro (3' o 5') se une a las proteínas de la familia Argonaute (AGO), formando el complejo de silenciamiento inducido por ARN denominado mRISC, de sus siglas en inglés "*miARN-induced silencing*

complex" (complejo de silenciamiento inducido por miARN). Este complejo tiene la capacidad de inhibir la expresión de genes diana específicos. Para que se produzca el silenciamiento de la expresión génica a través de mRISC, es necesario que haya complementariedad de bases entre el extremo 5' del miARN maduro (región semilla) cargado en el complejo y la región 3'-UTR del gen diana. Si la complementariedad es total, se induce la degradación del gen diana mediante la activación de la actividad ribonucleasa de AGO2. En caso de complementariedad parcial, la actividad ribonucleasa de AGO2 no se activa, y el complejo mRISC bloquea el acceso a la maquinaria de traducción (**Figura 8**). En ambos casos, se logra el silenciamiento de la expresión génica (O'Brien et al., 2018).

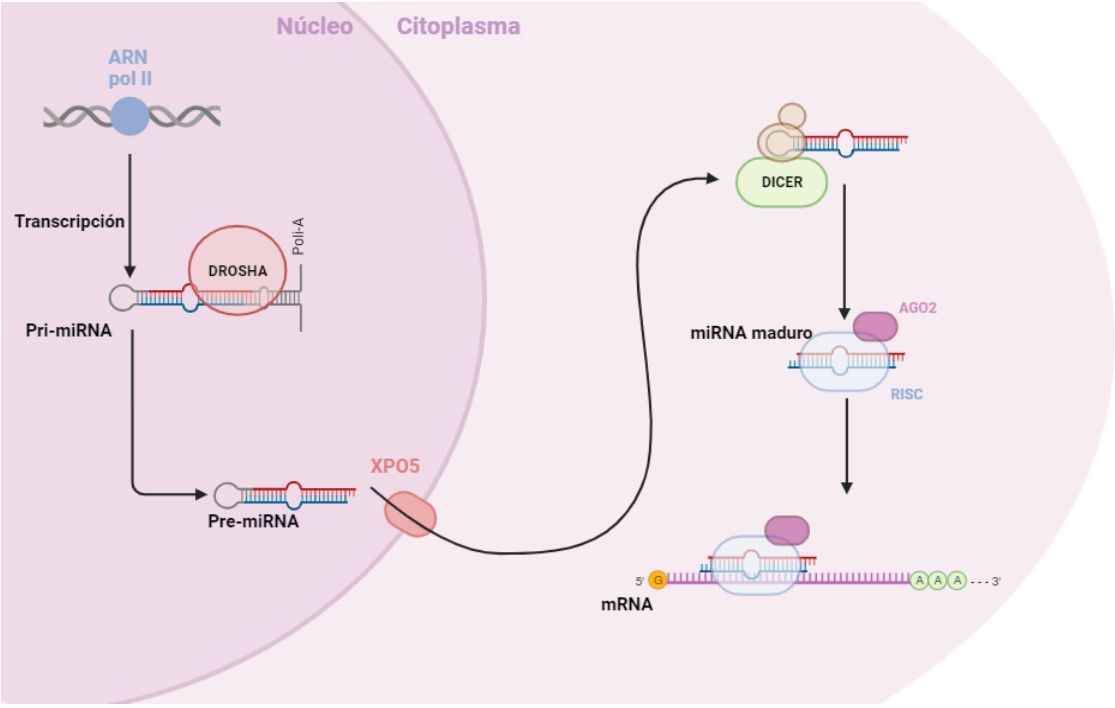


Figura 8. Ruta canónica de la biogénesis de miARNs celulares. Adaptado de Lin et al. (2015) (Lin & Gregory, 2015).

1.4.2. miARNs circulantes como marcadores predictivos

Los miARNs no sólo producen sus efectos dentro de la célula en la que se producen, sino que también se liberan al medio extracelular, estando presente en distintos fluidos, como la sangre y el líquido cerebroespinal, entre otros, típicamente encapsulados en

exosomas desde el compartimiento multivesicular de las células (Burgos et al., 2013; Costa et al., 2014; Yang et al., 2012), aunque también aparecen libres o unidos a complejos proteicos. Su presencia en los fluidos biológicos cumple con una función de comunicación intersistémica, en la que las células del organismo intercambian miARNs y otras moléculas reguladoras para transmitir determinados mensajes. Por lo tanto, los cambios de expresión en la célula de origen asociados con estados fisiológicos o patológicos específicos se reflejan también en el medio extracelular (Pogribny, 2018), convirtiéndose en excelentes biomarcadores reporteros de una determinada enfermedad, pudiendo funcionar como predictores de evolución o desarrollo de comorbilidades.

Por lo tanto, su análisis en un fluido biológico como el suero o el plasma, permite identificar alteraciones que están produciéndose en cualquier parte del organismo. En especial en algunas infecciones como es el caso del VIH y la infección por SARS-CoV-2, estudios previos han identificado que ambos virus secuestran la maquinaria que produce estas vesículas, para modificar su contenido y facilitar la infección a células vecinas. Tanto es así, que se han identificado miARNs circulantes asociados con la severidad y mortalidad de la COVID-19. Por ejemplo, se han encontrado niveles elevados de miR-22-3p y miR-21-5p en suero, que modulan genes de respuesta antiviral, y bajos niveles de miR-224-5p y miR-155-5p, que modulan factores proinflamatorios (Giannella et al., 2022). Los niveles diferenciales de estos miARNs permitieron clasificar de manera efectiva entre casos graves y leves/moderados de COVID-19 Asimismo, se han identificado miARNs, como let-7b-5p o miR-155-5p, como reguladores de los procesos de coagulación y trombosis en pacientes con COVID-19 (Eyileten et al., 2022). Además, individuos recuperados de la COVID-19 también presentan perfiles de miARNs asociados a síntomas o secuelas persistentes. Un ejemplo de ello es la expresión elevada del miARN-21 en individuos recuperados de la COVID-19 con fibrosis pulmonar.

Sin embargo, se desconoce si existe un perfil de expresión característico en PVIH recuperados de la COVID-19 que pueda asociarse con el desarrollo de determinadas alteraciones tras la resolución de la infección.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Hipótesis

La infección aguda producida durante la pandemia por SARS-CoV-2 en PVIH conduce a una desregulación persistente del sistema inmunitario, dejando secuelas a medio plazo que desencadenan un envejecimiento prematuro, desarrollo de cáncer, ECV y trombosis. Estas condiciones son las principales comorbilidades asociadas a la infección por el VIH, lo que agrava el pronóstico de las PVIH. Estas secuelas pueden estudiarse a través de las huellas que la infección por SARS-Co-V-2 deja en los niveles de marcadores y miARNs plasmáticos.

2.2. Objetivo general

Analizar el impacto a medio plazo de la infección por SARS-CoV-2 en PVIH sobre posibles secuelas desarrolladas a medio plazo en la inflamación crónica, el envejecimiento prematuro, el riesgo de desarrollo de cáncer, la ECV, así como la abundancia y perfil de miARNs plasmáticos en comparación con PVIH sin infección previa por SARS-CoV-2.

2.3. Objetivos específicos

1. Evaluación del impacto a medio plazo del SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos asociados a la inflamación crónica y el envejecimiento prematuro en PVIH.
2. Evaluación del impacto a medio plazo del SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos asociados al riesgo de desarrollo de cáncer en PVIH.
3. Evaluación del impacto a medio plazo del SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos asociados al desarrollo de ECV en PVIH.
4. Caracterización del perfil de miARNs plasmáticos en PVIH que han resuelto la infección por SARS-CoV-2.

3. PACIENTES Y MÉTODOS

3.1. Pacientes

El presente trabajo es un estudio observacional de diseño transversal con carácter retrospectivo.

Para llevarlo a cabo se incluyeron 95 PVIH, bajo TAR, seleccionados a través de las bases de datos de doce hospitales del Sistema Nacional de Salud (**Anexo I**) y estratificados en función de la adquisición o no, de la infección por SARS-CoV-2 (**Figura 9**):

1. **Grupo VIH/SARS** (grupo de estudio): 48 PVIH tras ≥ 4 semanas desde que se diagnosticó la infección por SARS-CoV-2 (PCR, de sus siglas en inglés "*polymerase chain reaction*" (reacción en cadena de la polimerasa), positiva). Los pacientes de este grupo fueron obtenidos de la Cohorte de la Red de Investigación del SIDA (CORIS) ubicada en el Biobanco del VIH del Hospital General Universitario Gregorio Marañón.
2. **Grupo VIH** (grupo control): 47 PVIH sin infección previa por SARS-CoV-2. Los pacientes incluidos en este grupo fueron reclutados antes del inicio de la pandemia de COVID-19 (colección C.0003796-Biobanco del Instituto de Salud Carlos III).

Ningún individuo incluido en el estudio había sido vacunado frente al SARS-CoV-2 en el momento de la obtención de la muestra (1 abril, 2020 – 30 septiembre, 2020).

Los criterios de inclusión para todos los participantes de este trabajo fueron: ser mayor de 18 años y llevar con tratamiento antirretroviral exitoso al menos 1 año con viremia indetectable. Asimismo, los criterios de exclusión fueron: embarazo, presencia de antígenos o anticuerpos frente al virus de la hepatitis B y C, infecciones oportunistas y otras enfermedades: neoplasias, enfermedades cardiovasculares y autoinmunes.

El estudio se llevó a cabo siguiendo los principios establecidos en la Declaración de Helsinki, habiéndose obtenido el consentimiento informado por escrito de todos los participantes. Además, el estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital

General Universitario Gregorio Marañón (Referencia interna nº162/20), así como por el Instituto de Salud Carlos III (CEI PI 18_2021).

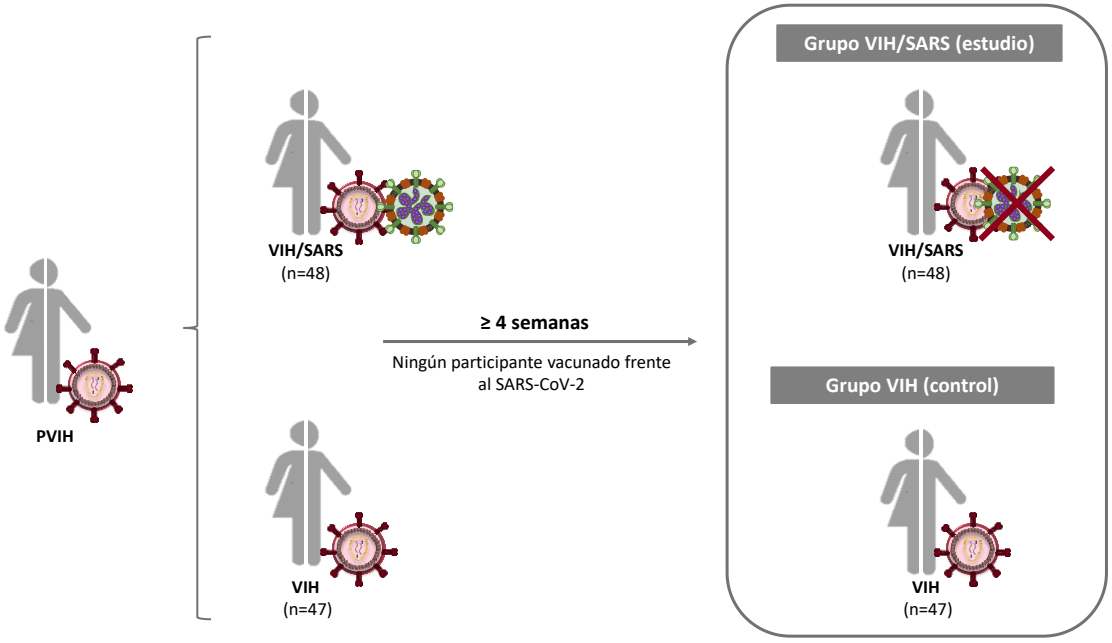


Figura 9. Grupos de estudio.

3.2. Características clínicas y epidemiológicas

Los datos epidemiológicos y clínicos de los pacientes de estudio fueron obtenidos a través de sus historias clínicas. Se recopilaron las siguientes variables:

- Variables epidemiológicas: sexo, edad, índice de masa corporal (IMC), origen étnico, tiempo de infección por VIH, tipo de TAR para el VIH, vía de transmisión del VIH, gravedad de la infección por SARS-CoV-2, tiempo transcurrido desde el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 y la recolección de muestras.
- Variables hematológicas: niveles de linfocitos T CD4+ y CD8+ y recuento de plaquetas.
- Variables bioquímicas: niveles séricos de aspartato transaminasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y la proporción entre ambas (AST/ALT).

- Variables metabólicas: niveles de colesterol total, colesterol HDL (de sus siglas en inglés "*high-density lipoprotein*"), triglicéridos, glucosa y creatinina.

3.3. Obtención y procesamiento de las muestras de sangre

A partir de 30 mililitros (mL) de sangre de cada paciente, obtenida mediante punción venosa en tubos Vacutainer® (Becton-Dickinson, Estados Unidos) utilizando ácido etilendiamin tetraacético (EDTA, de sus siglas en inglés "e*thylenediamine tetraacetic acid*") como anticoagulante, se realizó una centrifugación mediante gradiente de densidad con el fin de separar el plasma de la fase celular (**Figura 10**). Para mejorar el proceso, las muestras de sangre se diluyeron 1:1 en tampón fosfato salino (PBS, de sus siglas en inglés "*phospate buffered saline*") 1x. La sangre así diluida se transfirió a un tubo de 50 mL de SepMate™ (Stemcell Technologies, Canadá), donde se habían añadido previamente 15 mL de Lymphoprep™ (Stemcell Technologies, Vancouver, Canadá). Los tubos se centrifugaron a 2.100 revoluciones por minuto (rpm) durante 20 minutos en una *Centrifuge 5810R* (Eppendorf, Alemania).

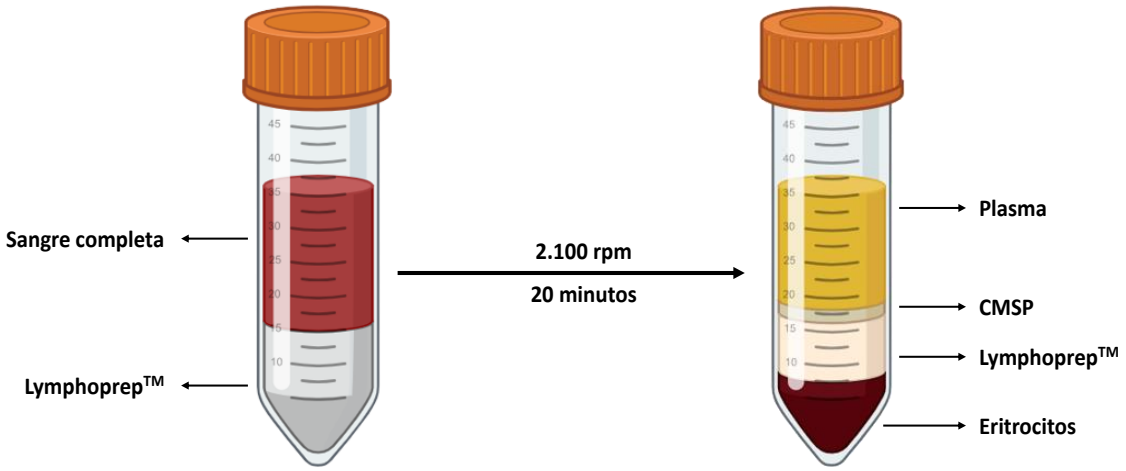


Figura 10. **Obtención de plasma en muestras de sangre por centrifugación en gradiente de densidad.** *Abreviaturas:* rpm, revoluciones por minuto; CMSP, células mononucleares de sangre periférica.

Con el fin de eliminar posibles restos celulares que pudieran interferir en la cuantificación de citoquinas, las muestras de plasma de ambos grupos se clarificaron mediante centrifugación a 10.000g durante 10 minutos a 4°C (*Centrifuge 5810R*, Eppendorf, Hamburgo, Alemania), almacenando el sobrenadante a -80°C hasta su posterior uso.

3.4. Análisis de biomarcadores plasmáticos

Para la cuantificación de los distintos biomarcadores plasmáticos se utilizó la tecnología Luminex xMAP mediante seis paneles diferentes de *ProcartaPlex™ Multiplex Immunoassays* (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos) (**Anexo II**). Esta tecnología utiliza microesferas magnéticas para poder detectar y cuantificar simultáneamente hasta 80 proteínas solubles en un mismo pocillo. Además, se basa en técnicas de inmunoensayo y funciona de manera similar a los conocidos tipo "sándwich", donde primero se captura el analito con un anticuerpo primario y luego se detecta con un anticuerpo secundario. Sin embargo, el sistema comercial empleado destaca por su alto rendimiento, mayor eficacia, velocidad y la calidad superior de los datos obtenidos (Valekova et al., 2015).

En primer lugar, tras el aclaramiento de las muestras, se diluyeron los sueros con Buffer Universal de Ensayo (UAB, de sus siglas en inglés "*universal assay buffer*") 1X, siguiendo las instrucciones específicas del fabricante para cada panel y no siendo necesario en todos los paneles. A continuación, por cada pocillo se añadieron 50 microlitros (µL) de microesferas específicas para cada analito en placas de 96 pocillos, seguido de 2 lavados con Buffer de Lavado 1X (Lavador automático *Biotek ELx50* (Agilent Technologies, Estados Unidos)). Luego, se preparó una curva estándar mediante dilución secuencial 1:4 de los estándares incluidos en el sistema comercial con Buffer UAB (1X), añadiendo 25 µl por pocillo de cada muestra, estándar y blanco a la placa. Posteriormente, la placa se agitó a 500 rpm durante 30 minutos y se incubó a 4°C durante toda la noche para aumentar la sensibilidad del inmunoensayo. Al día siguiente, la placa se agitó inicialmente a 500 rpm durante 30 minutos, luego se añadieron 25 µl por pocillo del

anticuerpo de detección (*Biotinylated detection Ab*) y se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad, con agitación a 500 rpm. Después, se realizaron 2 lavados, seguidos de la adición de 50 µl de Estreptavidina- PE (de sus siglas en inglés "*phycoerythrin*" (ficoeritrina)) por pocillo para detectar los diferentes analitos. Tras una incubación de 30 minutos con agitación a 500 rpm, se procedió a un nuevo lavado de las placas (**Figura 11**).

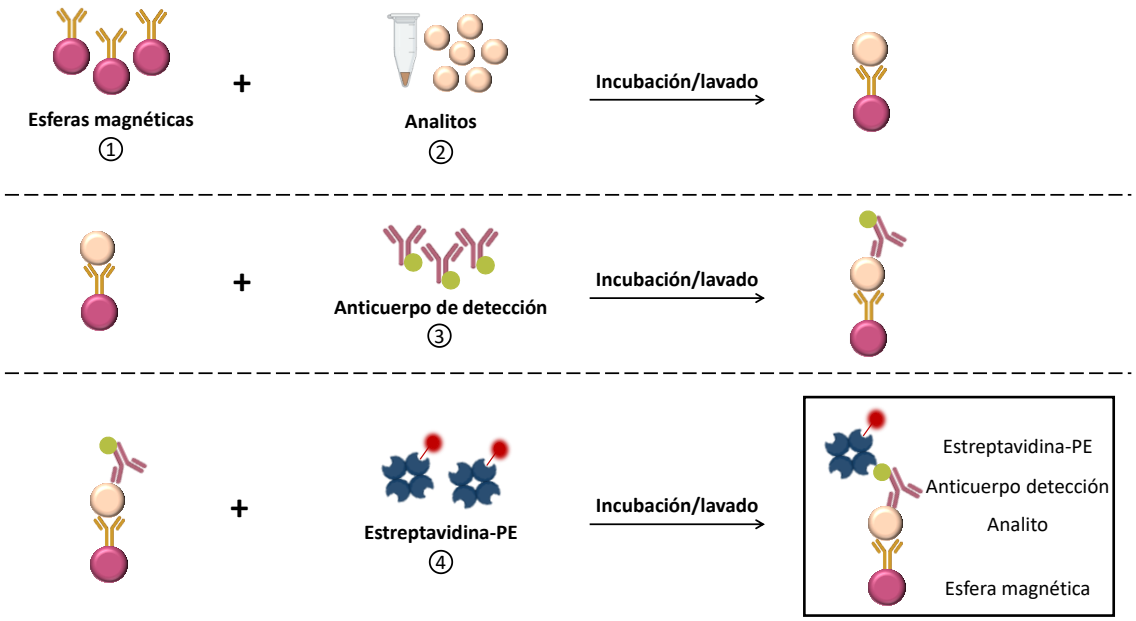


Figura 11. **Fundamento de los Inmunoensayos multiplex Procartaplex.** *Abreviaturas:* PE, de sus siglas en inglés "*phycoerythrin*" (ficoeritrina).

Todos los lavados se realizaron en un lavador automático *Biotek ELx50* (Agilent Technologies, Estados Unidos) y la lectura de los distintos analitos se realizó mediante la tecnología Luminex 100/200 mediante el software Bio-Plex versión 5.0. (BioRad, Estados Unidos).

3.4.1. Biomarcadores asociados a la inflamación crónica y el envejecimiento prematuro

En primer lugar, se llevó a cabo la cuantificación de 21 citoquinas solubles proinflamatorias y antiinflamatorias, 13 de ellas relacionadas con SASP, utilizando el

inmunoensayo multiplex Procartaplex "*Human Cytokine Storm Panel 21-plex*" (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific®, Estados Unidos) (**Anexo II**).

3.4.2. Biomarcadores asociados al riesgo de desarrollar cáncer

A continuación, se llevó a cabo la cuantificación de los niveles de 23 proteínas solubles asociadas a PCI, en particular pertenecientes a la superfamilia de las inmunoglobulinas (B7, CD28, IfCAMS), familia TIM, familia TNF/RSF, enzima IDO y S100, utilizando 2 inmunoensayos multiplex Procartaplex (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific®, Estados Unidos) (**Anexo II**).

3.4.3. Biomarcadores asociados al desarrollo de ECV

En relación con la ECV, se cuantificaron los biomarcadores solubles troponina I y NT-proBNP utilizando de nuevo inmunoensayos multiplex Procartaplex (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific®, Estados Unidos) (**Anexo II**).

Por otro lado, se realizó la cuantificación de 10 biomarcadores solubles relacionados con la cascada de coagulación utilizando 3 inmunoensayos multiplex Procartaplex (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific®, Estados Unidos). Específicamente, antitrombina, protrombina, factor XI, factor XII, factor XIII, factor IX, proteína S, proteína C, vWF y dímero D incluidos en los paneles "*Coagulation 4 Plex Human ProcartaPlex™ Panel 3*" (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific®, Estados Unidos), "*Coagulation 6 Plex Human ProcartaPlex™ Panel 1*" y un panel Multiplex Procartaplex personalizado (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific®, Estados Unidos) (**Anexo II**).

Asimismo, se llevó a cabo la cuantificación del biomarcador inflamatorio ferritina, asociado a ECV, mediante un panel de inmunoensayo multiplex Procartaplex personalizado (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific®, Estados Unidos) (**Anexo II**). Los niveles de otros biomarcadores inflamatorios asociados a eventos cardiovasculares, incluyendo PCR, IFN-γ, IL-1B, IL-6, IL-18, TNF-α, TNF-β, IL-17A, IL-8 y MCP-1 se midieron

por inmunoensayo empleando los paneles Multiplex Procartaplex "*Coagulation 6 Plex Human ProcartaPlex™ Panel 1*" y "*Human Cytokine Storm Panel 21-plex* (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific®, Estados Unidos) (**Anexo II**).

3.5. Estudio del perfil de expresión de miARNs plasmáticos mediante secuenciación masiva.

3.5.1. Selección de pacientes

La selección de muestras para secuenciación masiva es un paso limitante, debido al elevado coste de la técnica. Por ello, se seleccionaron 20 individuos de cada grupo mediante un proceso de selección basado en criterios demográficos específicos, asegurando la equidad en la representación de género, origen étnico e IMC entre ambos grupos (**Figura 12**). Este tamaño muestral será suficiente para alcanzar un adecuado poder estadístico (mínima tasa de cambio (FC, de sus siglas en inglés "*fold change*") del 1,5 y tasa de falso descubrimiento (FDR, de sus siglas en inglés "*false dscovery rate*") igual al 5%).

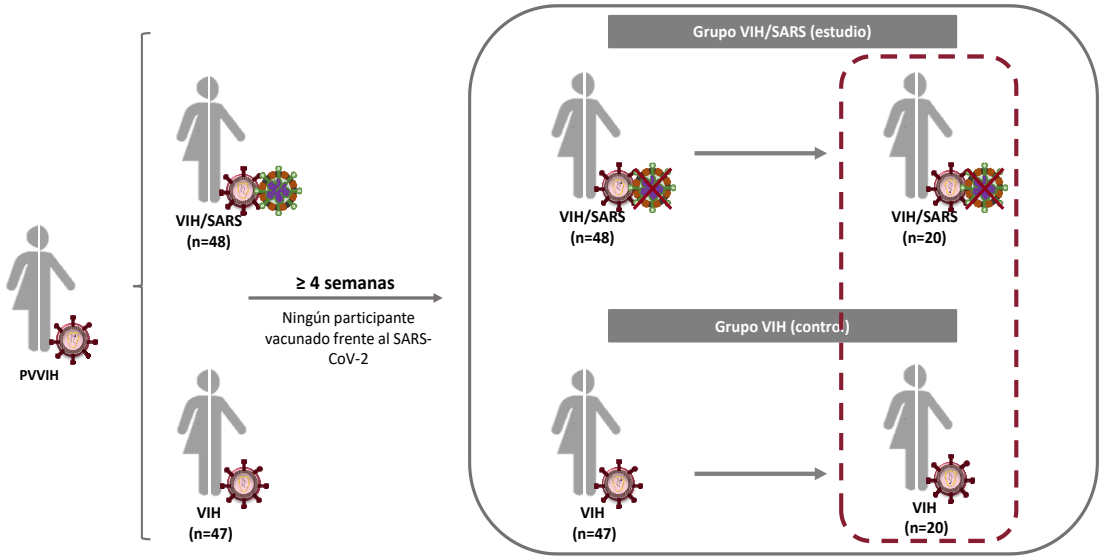


Figura 12. **Subpoblación de estudio para el análisis de miARNs**.

3.5.2. Extracción de ARN total

La extracción del ARN total enriquecido en miARNs, 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 microARNs para la secuenciación.

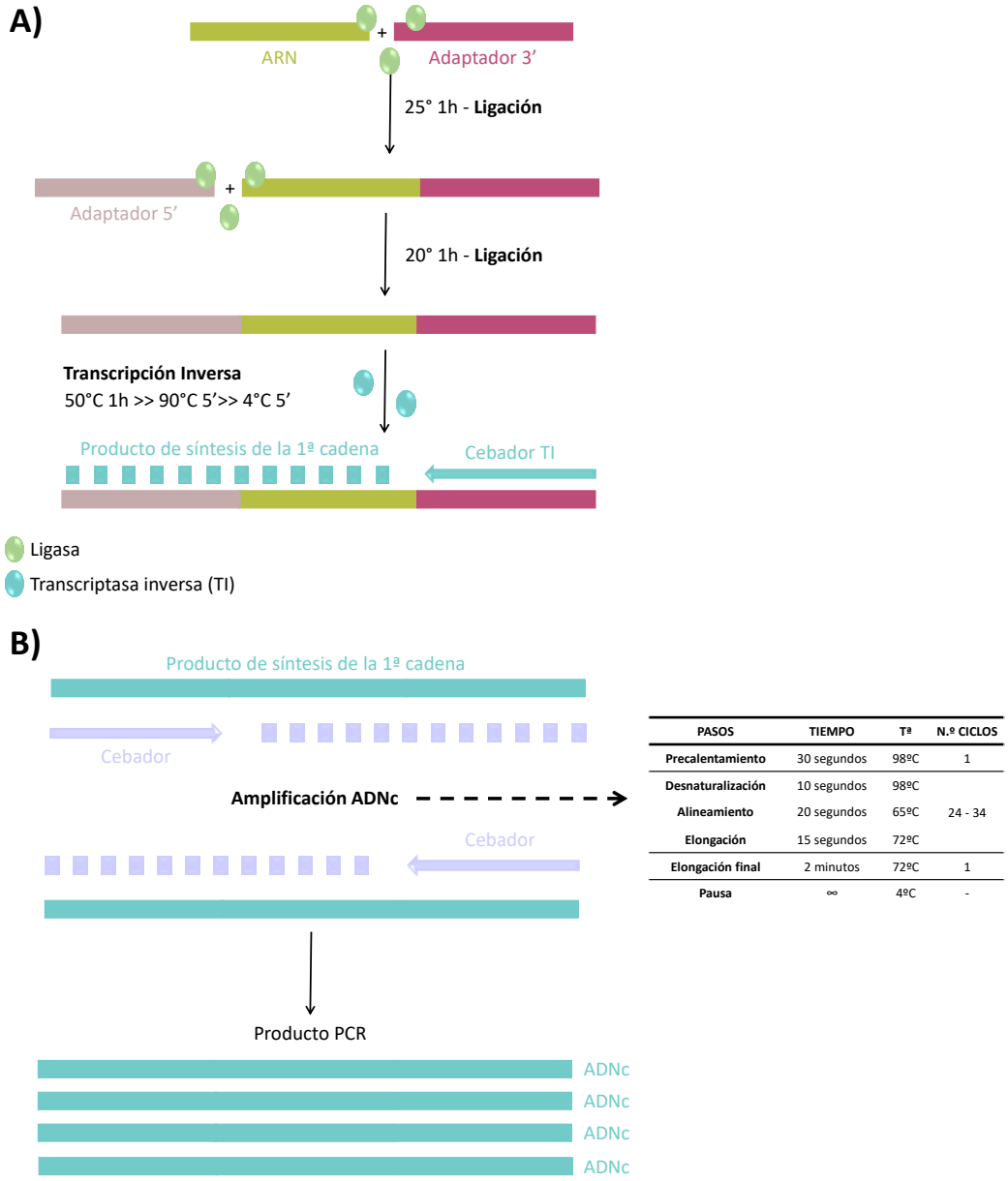
La cantidad y calidad de los ARN fueron analizadas mediante el sistema Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Estados Unidos) utilizando Chips Pico de ARN 6000 de Agilent (Agilent Technologies, Estados Unidos).

3.5.3. Preparación de librerías de secuenciación

La preparación de las librerías de secuenciación de ARNs cortos y la secuenciación masiva se llevaron a cabo en Centro de Investigación Cooperativa en Biociencias (CIC bioGUNE) del Parque Científico y Tecnológico en Vizcaya. Estas librerías fueron creadas siguiendo el protocolo incluido en el kit "*NEXTflex™ Small RNA Sequencing Kit v4 with Unique Dual Indices (UDIs)*" (©Bioo Scientific Corp., Estados Unidos).

En la **figura 13** se observan esquematizados los pasos de preparación de las librerías de secuenciación utilizando el kit "*NEXTflex™ Small RNA Sequencing Kit v4 with UDIs*" (©Bioo Scientific Corp., Estados Unidos) siguiendo las instrucciones del fabricante. Brevemente, se utilizaron entre 0,1 y 4,7 nanogramos (ng) de ARN total como material de partida. Se añadió un adaptador adenilado en 3' con 4 nucleótidos mediante una ligasa entrada cada uno de los ARNs cortos. Tras una incubación a 25°C durante 1 hora para llevar a cabo la ligación, se eliminaron el exceso de adaptadores. Posteriormente se añadió el adaptador 5' junto con la enzima ligasa, incubándose la mezcla a 20°C durante 1 hora. Sobre el fragmento con los dos adaptadores y el inserto de ARN se realizó una transcripción inversa para la síntesis de ADN copia (ADNc) durante 1 hora a 50°C, 5 min a 90°C y 5 min a 4°C (**Figura 13A**).

A continuación, se procedió a la amplificación de este ADNc mediante ciclos de PCR: 30 segundos a 98°C; 24 - 34 ciclos de 10 segundos a 98°C, 20 segundos a 65°C y 15 segundos a 72°C; una elongación final de 2 minutos a 72°C, y pausa a 4°C (**Figura 13B**).



PASOS	TIEMPO	Tª	N.º CICLOS
Precalentamiento	30 segundos	98ºC	1
Desnaturalización	10 segundos	98ºC	
Alineamiento	20 segundos	65ºC	24 - 34
Elongación	15 segundos	72ºC	
Elongación final	2 minutos	72ºC	1
Pausa	∞	4ºC	-

Figura 13. Pasos de preparación de bibliotecas de secuenciación mediante el kit "NEXTflex™ Small RNA Sequencing Kit v4 with UDIs".

La selección y purificación del tamaño del producto de la reacción de amplificación por PCR se llevó a cabo utilizando perlas magnéticas. Este paso es clave para eliminar

fragmentos de ADN no deseados (dímeros de adaptadores sin inserto y otras construcciones no informativas) y garantizar que la biblioteca de secuenciación esté compuesta principalmente por las moléculas de ARN cortas con los adaptadores correspondientes, que tendrán un tamaño específico de unos 158 pares de bases.

A continuación, las librerías se visualizaron en un Bioanalizador Agilent 2100 (Agilent Technologies, Estados Unidos) mediante el uso del kit de ADN de alta sensibilidad de Agilent (Agilent Technologies, Estados Unidos). Posteriormente, se cuantificaron utilizando el kit de ADN Qubit dsDNA HS (Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos).

3.5.4. Secuenciación

El proceso de secuenciación se llevó a cabo utilizando el secuenciador de alto rendimiento Illumina HiScan-SQ (Illumina, Estados Unidos), con el modo de lectura en pares y una longitud de 100 nucleótidos. Cada muestra proporcionada incluyó un índice único, que permitió combinar múltiples muestras en una sola línea de secuenciación. Además, se utilizó una profundidad de secuenciación de 20 millones de lecturas por muestra.

3.6. Análisis estadístico e integración de datos

El análisis estadístico se ha llevado a cabo mediante el software de programación estadística R, junto con su entorno de trabajo específico RStudio (v4.2.3) (Foundation for Statistical Computing, Austria).

En primer lugar, se ha importado la base de datos original, almacenada en formato Excel, en el entorno de programación RStudio (v4.2.3) mediante una función de lectura de archivos. A continuación, se ha llevado a cabo el procesamiento y la depuración de la base de datos original, que incluía variables clínicas y de laboratorio de cada paciente. Se realizó un análisis exploratorio con el objetivo de detectar valores atípicos o extremos, es decir, aquellos que se distanciaban del patrón general o tendencia de conjunto de datos. Posteriormente, se procedió a la eliminación de estos valores atípicos

o *outliers,* los cuales podrían influir de manera negativa en el análisis de los datos, mediante el método de los cuartiles. Este proceso consistió en calcular el rango intercuartílico (RIC) y posteriormente eliminar los valores que estaban por encima de Q3 + 1.5 * RIC o por debajo de Q1 - 1.5 * RIC, donde Q1 y Q3 representan el primer y tercer cuartil, respectivamente.

Una vez depurada la base de datos, se estudió la distribución de la normalidad de los datos mediante la prueba de *Shapiro-Wilk*. Dado que los datos no presentaron una distribución normal, se utilizaron modelos no paramétricos.

3.6.1. Análisis estadístico de las variables clínicas y epidemiológicas

Las características de la población de estudio se expresaron en términos de frecuencia indicando sus porcentajes (%) en el caso de las variables categóricas, y mediante medianas y RIC en el caso de las variables continuas. El análisis de las variables categóricas independientes se llevó a cabo utilizando la prueba *Chi-cuadrado de Pearson*, mientras que para las variables continuas se empleó la prueba *Mann-Whitney.*

3.6.2. Análisis estadístico de los biomarcadores plasmáticos

El nivel de expresión de los biomarcadores plasmáticos se ha determinado en términos de intensidad de fluorescencia (Breen et al., 2015).

A continuación, se llevaron a cabo análisis tanto univariantes como multivariantes mediante modelos lineales generalizados (MLG) con distribución gamma (link=log) para evaluar posibles diferencias en los niveles de expresión de los biomarcadores plasmáticos entre los dos grupos de estudio: el grupo VIH y el grupo VIH/SARS. La variable independiente fue el grupo al que pertenecía el paciente, y la variable dependiente el biomarcador sujeto a análisis.

En el análisis univariante, se consideró exclusivamente la variable predictora “grupo” con el objetivo de evaluar específicamente el impacto de pertenecer a un grupo u otro en relación con la variable respuesta, sin tener en cuenta otros factores predictores. Por

otro lado, en el análisis multivariante se ajustó por las covariables sexo y origen étnico, ya que se observaron diferencias significativas entre estas variables epidemiológicas entre los grupos de estudio. Se utilizó el grupo VIH como referencia para los modelos, y las estimas fueron calculadas como ratios de la media aritmética (AMR, de sus siglas en inglés "*arithmetic mean ratios*"), con y sin ajuste (aAMR, de sus siglas en inglés "adjusted *arithmetic mean ratios*"). Los valores de p obtenidos fueron corregidos (q) por la FDR mediante la corrección de Benjamin-Hochberg. Esto se hizo para minimizar el riesgo de obtener falsos positivos debido al efecto acumulativo de las pruebas (problema de multipruebas).

Las variables significativas fueron definidas como $q<0,1$ y aAMR superior/igual a 1,2 ($aAMR\geq1,2$) o inferior/igual a 0,8 ($aAMR\leq0,8$).

Asimismo, se analizó la correlación entre los biomarcadores plasmáticos significativos. Para ello, se utilizó la correlación de Spearman, considerando significativas únicamente aquellas correlaciones con un valor de coeficiente de correlación de Spearman (rho) $\geq0,3$ y un nivel de significación $q<0,1$.

Finalmente, los resultados se presentaron en formato de tabla y forest plot con el fin de complementar y facilitar la visualización y comprensión de los resultados. Las correlaciones se representaron mediante matrices, donde el tamaño de los círculos representaba la magnitud de la correlación, y el color indicaba la dirección, dónde un círculo azul oscuro indica una correlación positiva, mientras que un círculo rojo oscuro una correlación negativa.

3.6.3. Análisis bioinformático de los miARNs

Los datos de secuenciación de miARNs fueron procesados mediante un flujo de trabajo de bioinformática diseñado específicamente para miARNs, que incluyó el control de calidad, alineamiento, cuantificación e identificación de miARNs humanos. Este proceso se llevó a cabo en un entorno de trabajo respaldado por el sistema operativo multitarea UNIX.

Se descargaron las secuencias de ARNs cortos sin procesar desde el repositorio remoto de CiCbioGUNE utilizando el programa wget v1.19.5. Estas secuencias se almacenaron en formato FASTQ, comprimido mediante el método Gzip. Cada muestra generó un archivo FASTQ que, tal como se observa en la **Figura 14**, incluía la siguiente información para cada secuencia: un identificador único de secuencia, la secuencia de nucleótidos sin procesar y el valor de calidad Q, el cual indica la probabilidad de error en la asignación del nucleótido y se presenta en formato PHRED+33, utilizando caracteres ASCII para representar los índices de calidad numéricos.

Con el propósito de verificar la integridad de las secuencias después del proceso de descarga, se utilizó el algoritmo MD5 a través del programa md5sum v8.30, para comprobar que la descarga había sido correcta y no había habido pérdida de información.

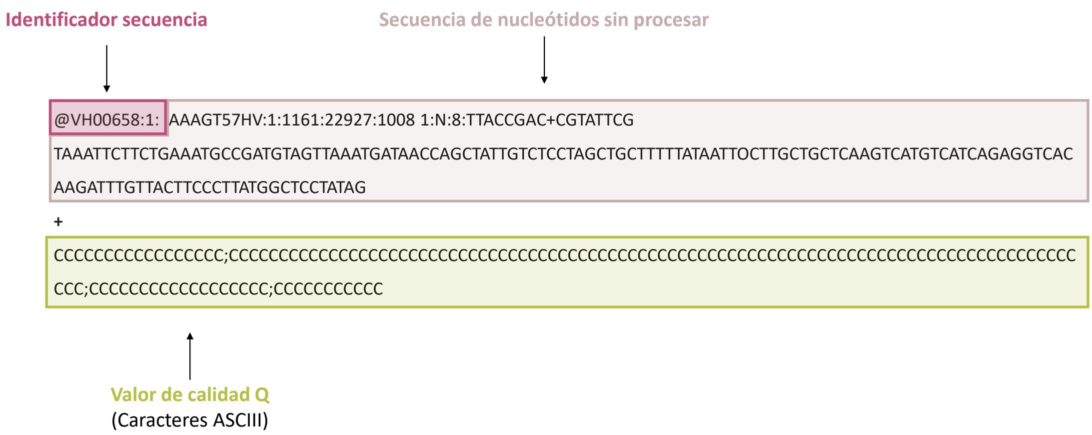


Figura 14. Archivo FASTQ de una secuencia de miARN.

Preprocesamiento de secuencias y control de calidad

Los archivos FASTQ fueron sometidas a un control de calidad preliminar utilizando *FastQC* (v0.11.9). Se procedió a eliminar los adaptadores añadidos en la construcción de las librerías y las secuencias de baja calidad en el extremo 3’ mediante el programa *cutadapt* (v.4.0). Asimismo, se excluyeron aquellas secuencias con una longitud inferior

a 16 nucleótidos, con el propósito de conservar únicamente aquellas cuya longitud se ajustará a las características típicas de los microARNs (aprox. 22 nucleótidos).

Una vez realizado el filtrado de secuencias, se verificó la calidad de las secuencias resultantes con el programa FastQC para garantizar el correcto pre-procesado de las secuencias.

Identificación y cuantificación de microARNs

La identificación y cuantificación de miARNs conocidos en las secuencias procesadas se llevó a cabo mediante el programa *miRDeep2* (v.0.0.7). Este software se compone de tres módulos desarrollados en el lenguaje de programación Perl, cada uno desempeñando funciones específicas (*mapper.pl*, *mirdeep2.pl* y *quantifier.pl.*).

Para utilizar el programa miRDeep2, se necesitaron los siguientes elementos:

- Un archivo con las secuencias pre-procesadas de los ARNs cortos de cada muestra en formato FASTQ.
- El genoma humano de referencia, previamente indexado, para alinear las secuencias procesadas (GRCh38, GenBank: GCA_000001405.29).
- Secuencias de miARNs precursores y maduros humanos previamente descritos. Para ello se utilizó la información almacenada en la base de datos pública *miRBase* (v.21).

Brevemente, las secuencias procesadas que superaron el primer filtro de calidad, se alinearon contra el genoma GRCh38 utilizando el módulo mapper.pl. Se conservaron solo las secuencias que alineaban completamente con el genoma de referencia y que no lo hacían en más de cinco loci diferentes. Luego, utilizando el módulo mirdeep2.pl, se identificaron y anotaron microARNs conocidos que pasaron el filtro de alineamiento.

Finalmente, la cuantificación de los miARN se realizó a través del módulo quantifier,pl, que determina la expresión de los miARN conocidos identificados con mirdeep2.pl y que cumplieron con el filtro de alineamiento.

El resultado fue una matriz de datos del perfil de expresión de microRNAs a partir de la cual se llevó a cabo el análisis estadístico.

3.6.4. Análisis estadístico de los miARNs

Análisis exploratorio del perfil de expresión de los miARNs

En primer lugar, se realizó una normalización de la matriz con DESeq2 que utiliza el método de ratio de medianas, según el cual los conteos son divididos por factores de tamaño específicos de la muestra determinados por la relación mediana de los conteos de miARNs en relación con la media geométrica de miARNs.

Posteriormente se llevó a cabo un análisis exploratorio de la matriz de datos de expresión de microARNs, utilizando el método de reducción de la dimensionalidad supervisada conocido como el Análisis Discriminante Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA, de sus siglas en inglés "*Partial least squares-discriminant analysis*"). Este enfoque facilita la detección de agrupaciones o muestras con diferentes niveles de relación, así como la identificación de posibles ruidos o artefactos causados por el procesamiento de las muestras.

Análisis del perfil de miARNs entre ambos grupos

A continuación, se llevó a cabo el análisis de expresión diferencial de miARNs en los dos grupos de estudio mediante MLGs con distribución negativa binomial. Se utilizó el perfil de miARNs de los individuos del grupo VIH como referencia para los modelos, y las estimas se calcularon como AMR sin ajuste. Los valores de p obtenidos fueron corregidos (q) por la FDR mediante la corrección de Benjamin-Hochberg.

Las variables significativas fueron definidas como q <0,1 y AMR superior/igual a 1,2 (AMR≥1,2) o inferior/igual a 0,8 (AMR≤0,8). Los resultados se representaron gráficamente mediante el gráfico de volcán.

Adicionalmente, se llevó a cabo un diagnóstico de calidad del modelo final, mediante la representación de los residuos de varianza del modelo en comparación con los cuantiles teóricos mediante un gráfico Q-Q. Si la distribución de los residuos del modelo sigue la línea de la diagonal en el gráfico, esto permitiría aceptar la hipótesis nula de similitud (Dunn, 2018), lo que indicaría un análisis aceptable.

3.6.5. Análisis funcional de los miARNs

El análisis funcional de los miARNs identificados con un perfil diferencial de expresión entre grupos se llevó a cabo con herramienta pública "*DIANA-mirPath*" (v.3.0), que permite la predicción de rutas biológicas basadas en la identificación de las dianas de miARNs.

La predicción de las dianas se basó en la base de datos TarBase (v7.0), la cual recopila interacciones de miARN validadas experimentalmente (Vlachos et al., 2015). A través de DIANA-mirPath, se realizó un enriquecimiento funcional de las dianas de nuestros miARNs mediante la KEGG Database, que facilita la identificación de las rutas biológicas en las que están involucrados los genes diana (Kanehisa et al., 2021). Los valores de p de enriquecimiento, calculados mediante el Test exacto de Fisher con distribución hipergeométrica, fueron corregidos por la FDR mediante el método de Benjamini-Hochberg.

Las variables significativas se definieron como AMR≥1,2 o AMR≤ 0,8 y q<0,05.

4. RESULTADOS

Estudio 1: Caracterización de la población de estudio

4.1. Población de estudio

Las características epidemiológicas y clínicas de la población de estudio se muestran en la **Tabla 5**. En general, los pacientes tenían una mediana de edad de 45 años, el 81,9% eran caucásicos y el 80% eran hombres. Todas las PVIH infectadas por el SARS-CoV-2 reportaron síntomas, aunque la mayoría de ellos, un 83,3% de los mismos, fueron síntomas leves. La mediana de tiempo entre el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 mediante PCR+ y la recogida de muestras fue de 12 [RIC, 9-16] semanas.

Tabla 5. Características epidemiológicas y clínicas de la población de estudio.

	Total (n=95)	**VIH/SARS** (n=48)	**VIH** (n=47)	**p**
Sexo (masculino)	76,0 (80,0%)	44,0 (91,7%)	32,0 (68,1%)	***0,005****
Edad (años)	45,2 [36,4-53,6]	45,4 [37,3-52,6]	45,0 [36,0-54,0]	0,973
IMC (kg/m^2)	24,9 [23,0-27,5]	25,9 [23,2-28,6]	24,3 [22,7-26,0]	0,148
Origen étnico (Caucásico)	77,0 (81,9%)	32,0 (66,7%)	45,0 (97,8%)	***<0,001****
Infección por VIH				
Tiempo de infección VIH (años)	9,0 [5,0-13,0]	8,5 [5,0-12,0]	9,0 [5,0-20,0]	0,311
Terapia antirretroviral VIH				0,293
2ITAN+II	53 (56,4%)	26 (55,3%)	27 (57,4%)	
2ITAN+IP	13 (13,7%)	6 (12,5%)	7 (14,9%)	
3ITAN	24 (25,5%)	13 (27,7%)	11 (23,4%)	
2ITAN+ITNAN	5 (5,3%)	3 (6,4%)	2 (4,3%)	
Vía de transmisión VIH				0,770
UDIs	2 (2,7%)	2 (4,3%)	0 (0,0%)	
Sexual	71 (94,7%)	43 (93,5%)	28 (96,6%)	
Ambas	2 (2,7%)	1 (2,2%)	1 (3,4%)	
Infección por SARS-CoV-2				
Gravedad				
Leve	40 (83,3%)	40 (83,3%)	NA	
Grave	8 (16,7%)	8 (16,7%)	NA	

Notas. *Estadística*: los valores se expresan como la mediana [RIC] y el recuento absoluto (porcentaje). Los valores de p fueron estimados mediante la prueba de Chi-cuadrado para variables categóricas y la prueba de Mann-Whitney para variables continuas. *Se

definieron como valores significativos aquellos con p ≤ 0,05. *Abreviaturas*: VIH, virus de la inmunodeficiencia humana; IMC, índice de masa corporal; II: inhibidores de la integrasa; IP, inhibidores de la proteasa; ITAN, inhibidores de la transcriptasa inversa de nucleósidos; ITNAN, inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos; UDIs, usuarios de drogas intravenosas; NA, no aplicable.

En relación con las variables hematológicas, se observaron niveles similares de linfocitos T CD4+ y CD8+ entre ambos grupos de estudio, según se detalla en la **Tabla 6**. Los individuos del grupo VIH/SARS demostraron mantener niveles de linfocitos T CD4+ y CD8+ dentro de los rangos esperados incluso después de la infección por SARS-CoV-2, lo que sugiere una estabilidad en el estado de su sistema inmunitario. Además, en relación con el recuento de plaquetas, el grupo VIH/SARS mostró valores comparables al grupo VIH y dentro del rango de normalidad, en línea con lo esperado.

Tabla 6. Variables hematológicas de la población de estudio.

	Total (n=95)	**VIH/SARS** (n=48)	**VIH** (n=47)	**p**
Parámetros inmunológicos				
Linfocitos T CD4+ (Células/µL)	763 [570-958]	732 [530-915]	783 [601-1007]	0,218
% Linfocitos T CD4+	34,00 [28,31-38,36]	34,00 [28,00-37,50]	35,00 [31,38-39,25]	0,114
Linfocitos T CD8+ (Células/µL)	858 [676-1.230]	753 [648-1041]	905 [690-1451]	0,185
% Linfocitos T CD8+	38,72 [33,25-46,00]	38,00 [26,00-45,00]	40,62 [35,92-47,95]	0,113
Ratio CD4+/CD8+	84,73 [65,45-119,60]	104,21 [65,45-144,44]	76,75 [65,25-99,65]	0,170
Parámetros hematológicos				
Plaquetas (Células/µL)	237.000 [215.000-272.000]	239.000 [215.000-270.000]	228.500 [215.750-276.250]	0,665

Notas. *Estadística*: los valores se expresan como la mediana [RIC] y el recuento absoluto (porcentaje). Los p valores fueron estimados mediante la prueba de Chi-cuadrado para variables categóricas y la prueba de Mann-Whitney para variables continuas. *Se definieron como valores significativos aquellos con p ≤ 0,05. *Abreviaturas*: VIH, virus de la inmunodeficiencia humana; SARS, SARS-CoV-2; µL, microlitros.

Por otro lado, se analizaron posibles diferencias en el perfil bioquímico hepático y el perfil metabólico en nuestra cohorte de estudio. Los resultados de esta comparación se presentan en la **Tabla 7**.

En cuanto al perfil bioquímico hepático, no se evidenciaron diferencias significativas entre los dos grupos analizados. En general, las PVIH mostraron niveles de AST, ALT y AST/ALT con una mediana de 24,00 [20,00-30,25], 28,00 [20,00-37,00]y 89,90 [75,06-107,46], respectivamente. Estos valores se encuentran dentro de los rangos considerados normales y no sugieren la presencia de patología hepática significativa en ninguno de los grupos estudiados.

En lo que respecta al perfil metabólico, se observaron diferencias significativas entre ambos grupos únicamente para los niveles de creatinina. El grupo VIH/SARS mostró niveles de creatinina significativamente superiores al grupo VIH, con valores 0,96 [RIC, 0,88-0,96] y 0,84 [RIC, 0,74-0,94], respectivamente. Sin embargo, es importante destacar que estos valores se encuentran dentro de los rangos considerados normales. En cuanto a los demás parámetros metabólicos, no se observaron diferencias significativas entre los grupos. En general, las PVIH presentaron valores medianos en los niveles de colesterol, HDL, TG y glucosa de 183,00 [162,00-207,50], 44,00 [38,00-56,00], 111,00 [82,00-174,00] y 90,00 [85,00-96,00], respectivamente. Todos estos valores se encuentran dentro de los rangos de normalidad, lo que sugiere una adecuada función metabólica en ambos grupos estudiados.

Tabla 7. Parámetros bioquímicos y metabólicos de la población de estudio.

	Total (n=95)	**VIH/SARS** (n=48)	**VIH** (n=47)	**p**
Perfil bioquímico hepático				
AST (UI/L)	24,00 [20,00-30,25]	23,50 [16,75-30,25]	25,00 [21,50-30,25]	0,224
ALT (UI/L)	28,00 [20,00-37,00]	25,00 [18,00-38,00]	28,00 [23,00-33,25]	0,603
AST/ALT	89,90 [75,06-107,46]	90,03 [66,91-106,67]	88,93 [76,50-111,34]	0,452
Perfil metabólico				

Colesterol total (mg/dL)	183,00 [162,00-207,50]	182,00 [152,00-211,00]	183,00 [169,50-204,25]	0,549
HDL (mg/dL)	44,00 [38,00-56,00]	43,00 [38,25-56,00]	46,00 [38,00-55,00]	0,559
TG (mg/dL)	111,00 [82,00-174,00]	122,50 [77,25-186,00]	111,00 [85,00-172,00]	0,951
Glucosa (mg/dL)	90,00 [85,00-96,00]	89,0 [81,0-95,0]	91,00 [86,75-96,25]	0,282
Creatinina (mg/dL)	0,90 [0,82-1,01]	0,96 [0,88-0,96]	0,84 [0,74-0,94]	***≤0,001****

Notas. *Estadística*: los valores se expresan como la mediana [RIC] y el recuento absoluto (porcentaje). Los valores de p fueron estimados mediante la prueba de Chi-cuadrado para variables categóricas y la prueba de Mann-Whitney para variables continuas. *Se definieron como valores significativos aquellos con p ≤ 0,05. *Abreviaturas*: VIH, virus de la inmunodeficiencia humana; SARS, SARS-CoV-2; UI/L, Unidades internacionales por litro; mg/dL, miligramo por decilitro; AST, aspartato aminotransferasa aspartato aminotransferasa; ALT, alanina aminotransferasa; HDL, lipoproteína de alta densidad; TG, triglicéridos.

Estudio 2: Evaluación del impacto a medio plazo del SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos asociados a la inflamación crónica y el envejecimiento prematuro.

En primer lugar, se evaluó como el SARS-CoV-2 afecta a medio plazo en la inflamación crónica y en el envejecimiento prematuro en PVIH.

4.2. Análisis de biomarcadores plasmáticos asociados a la inflamación crónica y el envejecimiento prematuro

Para ello, se analizaron 21 biomarcadores plasmáticos de citoquinas inflamatorias, evaluados simultáneamente a través del panel "*Human Cytokine Storm Panel 21-plex*". Para facilitar la interpretación de los resultados, estos se clasifican en función de si son citoquinas inflamatorias relacionadas con SASP o no (resto de citoquinas inflamatorias del panel).

Citoquinas inflamatorias

En primer lugar, el grupo VIH/SARS mostró valores significativamente superiores en 4 de las 7 citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias evaluadas, entre las que se incluyeron IL-4 [aAMR= 1,27[1,03-1,55], q=0,076], IL-12p70 (IL12B) [aAMR= 1,57[1,21-2,03], q=0,011], IL-17A [aAMR= 1,30[1,06-1,59], q=0,038] e IFN-α (IFNA1) [aAMR= 1,19[1,02-1,40], q=0,076] (**Figura 15, Anexo III**).

Citoquinas inflamatorias SASP

Los principales resultados relacionados con biomarcadores incluidos en el perfil SASP llevados a cabo mediante MLG multivariante, se recogen en la **Figura 15** y muestran valores significativamente más elevados en 5 de 14 citoquinas SASP analizadas: las citoquinas TNF-β (LTA) [aAMR= 1,36[1,03-1,80], q=0,076], IL-8 (CXCL8) [aAMR= 1,41[1,13-1,76], q=0,020], IL-13 [aAMR= 1,30[1,04-1,62], q=0,076], MIP-1α (CCL3) [aAMR= 2,60[1,47-4,61], q=0,011] y MIP-1β (CCL4) [aAMR= 1,25[1,01-1,56], q=0,098], para el grupo VIH/SARS en comparación con el grupo VIH (**Anexo III**).

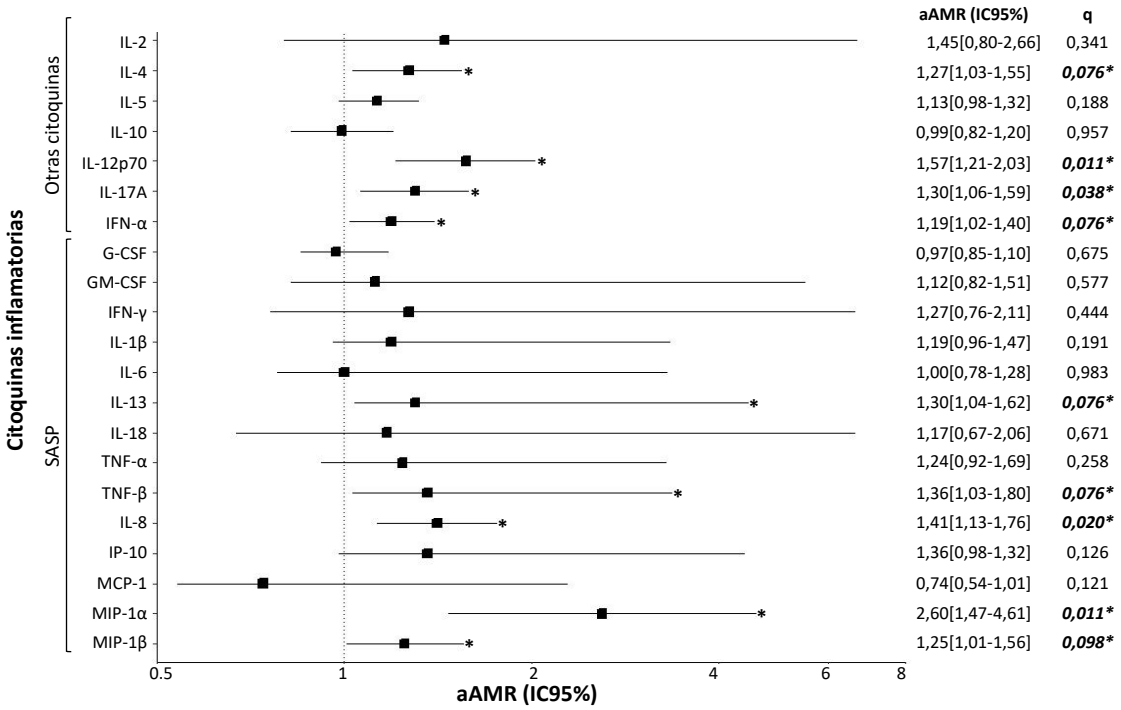


Figura 15. Impacto a medio plazo de la infección por SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos relacionados con inflamación crónica y envejecimiento prematuro. Forest plot que muestra los aAMR y el intervalo de confianza del 95% de citoquinas relacionadas con el SASP y el perfil anti y proinflamatorio. Estadística: Las diferencias entre los grupos se analizaron utilizando un MLG, ajustado por sexo y origen étnico. El p valor (p) se corrigió (q) por tasa de falso descubrimiento (FDR). *Se definieron como valores significativos aquellos con aAMR≥1,2 o ≤0,8 y q-<0,1. Abreviaturas: SASP, fenotipo secretor asociado a senescencia; MLG, modelo lineal generalizado; aAMR, razón media aritmética ajustada; IC, intervalo de confianza; p, valor de p; q, valor de p corregido.

Estudio 3: Evaluación del impacto a medio plazo del SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos asociados al riesgo de desarrollo de cáncer.

A continuación, se procedió a evaluar como el SARS-CoV-2 impacta en el riesgo de desarrollo de cáncer en PVIH. Para ello se analizaron se analizaron 23 biomarcadores plasmáticos de proteínas asociadas a PCI.

4.3. Análisis de biomarcadores plasmáticos relacionados con el riesgo de desarrollo de cáncer.

Como muestra la **Figura 16**, el análisis de estos biomarcadores plasmáticos mostró discrepancias significativas entre los dos grupos de pacientes evaluados. Los individuos pertenecientes al grupo VIH/SARS mostraron niveles significativamente elevados en 10 de los 23 biomarcadores evaluados en comparación con el grupo VIH, tras una mediana de 12 [RIC, 9-16] semanas desde el diagnóstico del SARS-CoV-2 por PCR+ (**Anexo IV**).

Dentro del conjunto de biomarcadores analizados, que evidenciaron incrementos significativos, se destacan:

I. 5 biomarcadores de proteínas asociadas a PCI relacionados con la *superfamilia de inmunoglobulinas*: CD80 [aAMR = 1,80 [1,27-2,56], q=0,011], PD-L2 (PDCD1LG2) [aAMR = 1,25 [1,06-1,48], q=0.038], CD276 [aAMR = 1,28 [1,13-1,45], q=0,011], PD-1 (PDCD1) [aAMR = 1,65 [1,24-2,20], q=0,011] y CD47 [aAMR = 1,25[1,08-1,46], q=0,023].

II. 2 biomarcadores de proteínas asociadas a PCI asociados con la *familia TIM*: TIM-3 (HAVCR2) [aAMR = 1,25 [1,10-1,42], q=0,011] y TIM-4 (TIMD4) [aAMR = 1,37 [1,03-1,82], q=0,078].

III. 3 biomarcadores de proteínas asociadas a PCI de la *familia TNF/RSF:* CD137 (TNFRSF9) [aAMR = 1,39 [1,03-1,87], q=0,082], GITR (TNFRSF18) [aAMR= 1,66 [1,16-2,37], q=0,033] y HVEM (TNFRSF14) [aAMR = 1,35 [1,09-1,69], q=0,033].

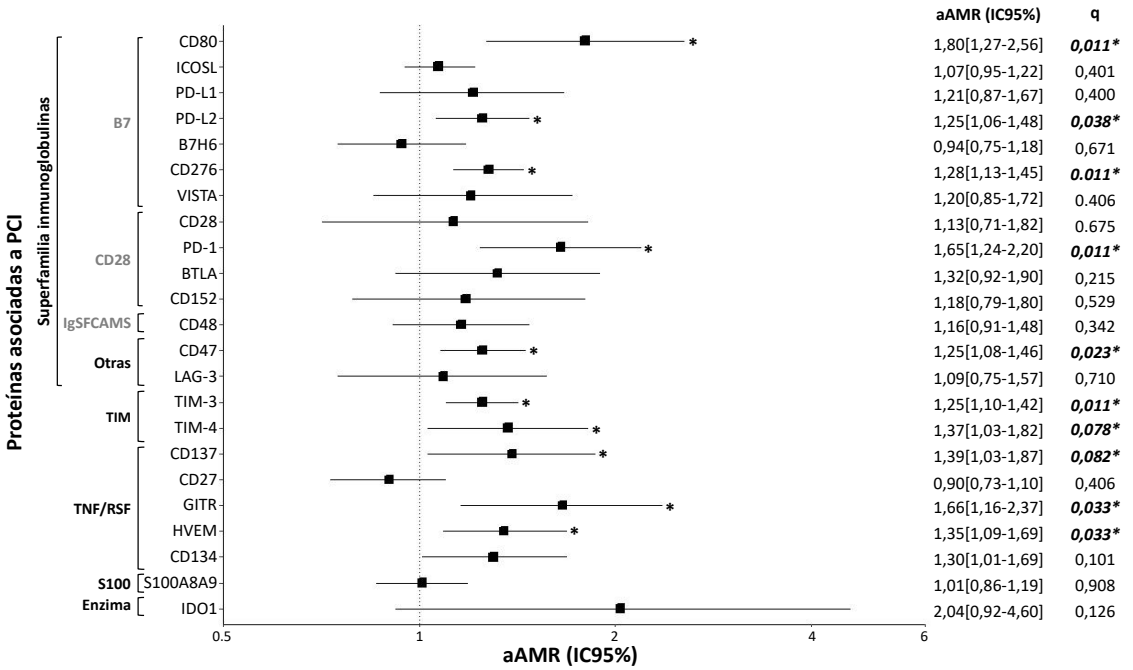


Figura 16. Impacto a medio plazo de la infección por SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos relacionados con el riesgo de desarrollo de cáncer. Forest plot que muestra los aAMR y el intervalo de confianza del 95% de diferentes proteínas relacionadas con PCI. *Estadística*: Las diferencias entre los grupos se analizaron utilizando un MLG, ajustado por sexo y origen étnico. El p valor (p) se corrigió (q) por tasa de falso descubrimiento (FDR). *****Se definieron como valores significativos aquellos con aAMR≥1,2 o ≤0,8 y q<0,1. *Abreviaturas*: PCI, puntos de control inmunitario; MLG, modelo lineal generalizado; aAMR, razón media aritmética ajustada; IC, intervalo de confianza; p, valor de p; q, valor de p corregido.

Estudio 4: Interacción entre biomarcadores plasmáticos asociados a la inflamación crónica, el envejecimiento prematuro y el riesgo de desarrollo de cáncer.

Con el objetivo de profundizar en el análisis, se exploró la posible correlación entre los biomarcadores plasmáticos significativos relacionados con inflamación crónica, envejecimiento prematuro y cáncer en el grupo VIH/SARS. Esta investigación se justifica debido a la estrecha relación entre la inflamación y las comorbilidades asociadas al envejecimiento prematuro y al cáncer.

4.4. Interacción entre biomarcadores plasmáticos asociados a inflamación, envejecimiento prematuro y cáncer en individuos del grupo VIH/SARS.

En la **Figura 17** se muestran los resultados de las correlaciones entre los biomarcadores plasmáticos significativos asociados a la inflamación crónica y el envejecimiento prematuro con el riesgo de desarrollo de cáncer dentro del grupo de estudio VIH/SARS. Se identificaron correlaciones positivas significativas entre los niveles de citoquinas inflamatorias y citoquinas inflamatorias SASP con las proteínas asociadas a PCI.

Específicamente, se observaron correlaciones positivas entre las citoquinas inflamatorias SASP IL-13 y TNF-β (LTA), y las proteínas asociadas a PCI CD80 [rho=0,31, q=0,073; rho=0,34, q=0,073, respectivamente], GITR (TNFRSF18) [rho=0,37, q=0,024; rho=0,44, q=0,019, respectivamente], y HVEM (TNFRSF14) [rho=0,33, q=0,071; rho=0,46, q=0,012, respectivamente], así como MIP-1α (CCL3) y GITR (TNFRSF18) [rho=0,37 q=0,024] (**Anexo V**).

Adicionalmente, se hallaron correlaciones positivas entre otras citoquinas inflamatorias y proteínas asociadas a PCI. Entre estas asociaciones, resaltan IL-4 y GITR (TNFRSF18) [rho=0,33 q=0,040]; IL-12p70 (IL12B) y CD80 [rho=0,31 q=0,073], IFN-α (IFNA1) con CD80 y GITR (TNFRSF18) [rho=0,32 q=0,073; rho=0,39 q=0,024, respectivamente] (**Anexo V**).

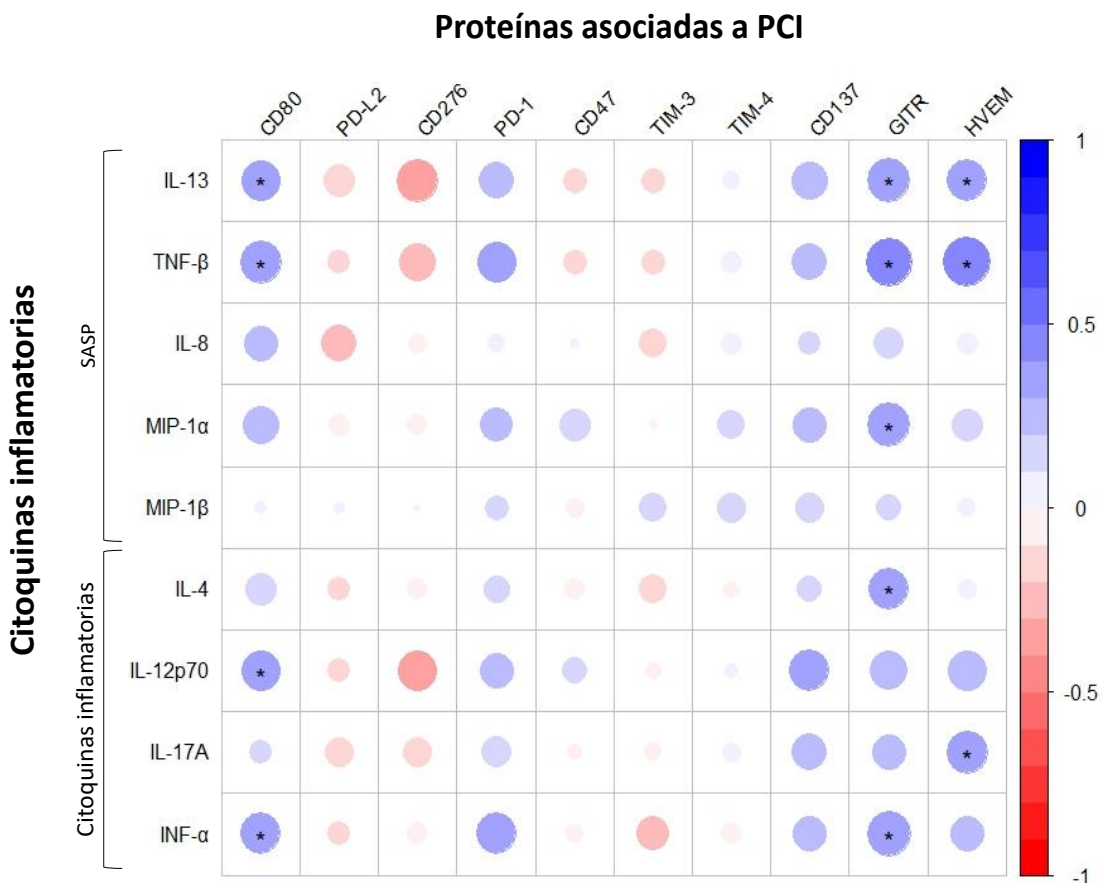


Figura 17. Relación entre los biomarcadores plasmáticos asociados a inflamación crónica, envejecimiento prematuro y riesgo de desarrollo de cáncer significativos en el grupo VIH/SARS. Matriz de correlación entra las citoquinas inflamatorias y proteínas asociadas a PCI en el grupo VIH/SARS. El tamaño del círculo indica la fuerza de la correlación, y el color representa la dirección, donde el azul oscuro grande representa una correlación positiva, correspondiendo un azul intenso al máximo valor posible (1) y el blanco el mínimo posible; y el color rojo representa una correlación negativa, correspondiendo un rojo intenso al máximo valor posible (-1). *Estadísticas:* el análisis se realizó con la correlación de Spearman. *****Los valores significativos se definieron como rho≥0,3 y valor de q<0,1. *Abreviaturas:* SASP, fenotipo secretor asociado a senescencia; PCI, puntos de control inmunitario.

Estudio 5: Evaluación del impacto a medio plazo del SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos asociados a ECV.

A continuación, se analizó el efecto a medio plazo del SARS-CoV-2 en los biomarcadores asociados a la ECV en PVIH.

4.5. Análisis de biomarcadores plasmáticos relacionados con ECV

En primer lugar, como se observa en la **Figura 18** y de acuerdo con lo esperado, los individuos del grupo VIH/SARS presentaron niveles significativamente elevados de NT-proBNP [aAMR= 1,71[1,18-2,49], q=0,011] en comparación con el grupo VIH. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en los niveles de Troponina I, por lo que el grupo VIH/SARS no tiene mayor riesgo de desarrollar síndromes coronarios agudos e infarto agudo de miocardio a medio plazo (**Anexo VI**).

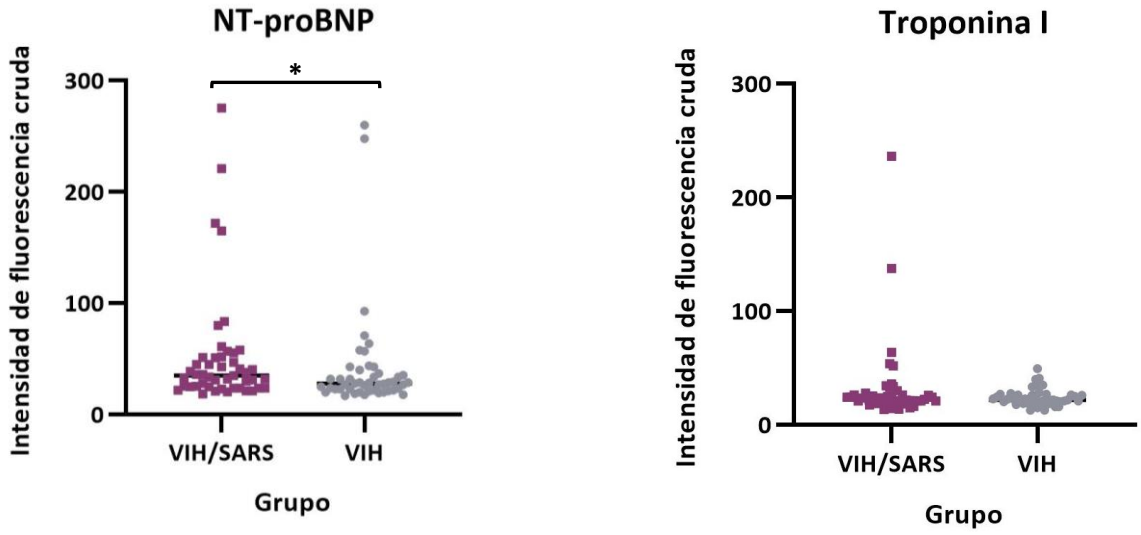


Figura 18. Impacto a medio plazo de la infección por SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos relacionados el desarrollo de ECV. Gráficos de caja que representan los niveles de biomarcadores plasmáticos relacionados con ECV. *Estadística*: Las diferencias entre los grupos se analizaron utilizando un MLG, ajustado por sexo y origen étnico. El p valor (p) se corrigió (q) por tasa de falso descubrimiento (FDR). *Se definieron como valores significativos aquellos con aAMR≥1,2 o ≤0,8 y q<0,1.

La **Figura 19** mostró una desregulación significativa al alza en los 10 biomarcadores relacionados con la cascada de coagulación en comparación con el grupo VIH (**Anexo VI**), que actúan en diferentes puntos de la cascada de coagulación:

- Factores cruciales en el inicio de la cascada: el Factor von Willebrand (vWF) [aAMR= 1,26[1,05-1,50], q=0,018], y los factores IX (F9) [aAMR= 1,60[1,42-1,82], q≤0,001], XI (F11) [aAMR=1,69 [1,51-1,89], q≤0,001] y XII (F12) [aAMR= 1,53[1,35-1,74], q≤0,001].
- Inhibidores naturales de la cascada de coagulación: la antitrombina (SERPINC1) [aAMR= 1,27[1,18-1,37], q≤0,001], proteína S (PROS1) [aAMR= 1,24[1,11-1,39], q≤0,001] y la proteína C (PROC) [aAMR= 1,65[1,47-1,85], q≤0,001].
- Elementos intermedios: como la protrombina (F2) [aAMR= 1,55[1,44-1,68], q≤0,001].
- Factores involucrados en los últimos eventos de la cascada: dímero D [aAMR= 1,49[1,13-1,97], q=0,011] y el factor XIII (F13) [aAMR= 1,37[1,18-1,88], q≤0,001].

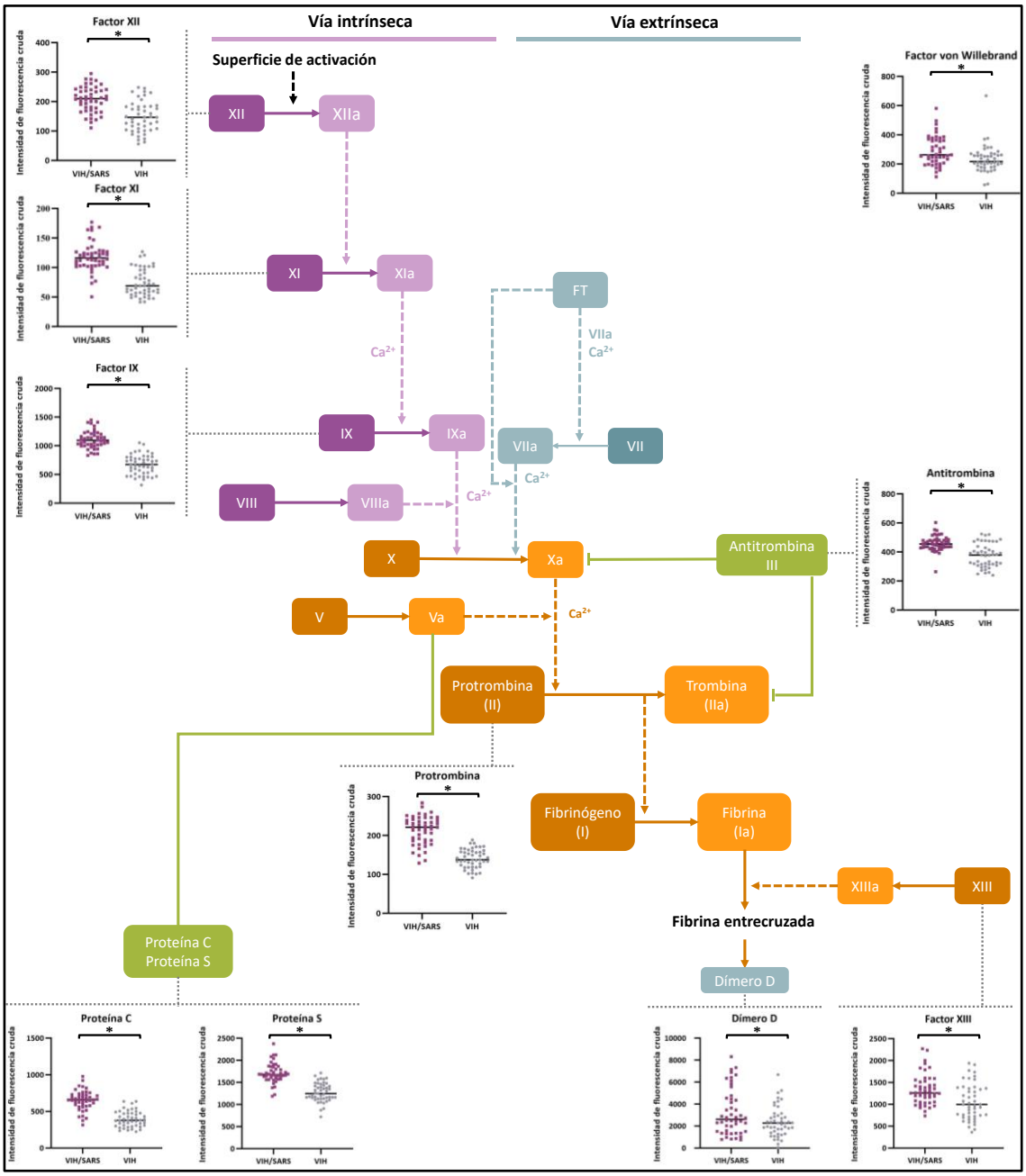


Figura 19. Impacto a medio plazo de la infección por SARS-CoV-2 en los componentes de la cascada de coagulación. Gráficos de caja que representan los niveles plasmáticos de biomarcadores plasmáticos relacionados con la cascada de coagulación. *Estadística*: Las diferencias entre los grupos se analizaron utilizando un MLG, ajustado por sexo y origen étnico. El p valor (p) se corrigió (q) por tasa de falso descubrimiento (FDR). *****Se definieron como valores significativos aquellos con aAMR≥1,2 o ≤0,8 y q<0,1. *Abreviaturas*: FT, factor tisular; GLM, modelo lineal generalizado.

Como se detalla en la **Figura 20**, el grupo VIH/SARS presentó notables alteraciones en los niveles de biomarcadores inflamatorios relacionadas con ECV en comparación con el grupo VIH (**Anexo VI**).

En particular, se observó que los individuos de grupo VIH/SARS exhibieron niveles significativamente más elevados en 6 de los 11 biomarcadores evaluados destacando el TNF-β (LTA) [aAMR= 1,36[1,03-1,80], q=0,040], la IL-17A [aAMR= 1,30[1,06-1,59], q=0,018], la IL-8 (CXCL8) [aAMR= 1,30[1,13-1,76], q=0,007], la proteína C reactiva [2,12[1,38-3,29], q=0,002], y la ferritina [aAMR= 1,54[1,18-2,01], q=0,043] en comparación con el grupo VIH. Por el contrario, los niveles de MCP-1 (CCL2) [1,40[1,04-1,87], q=0,078] observados fueron significativamente más bajos en el grupo VIH/SARS respecto al grupo VIH.

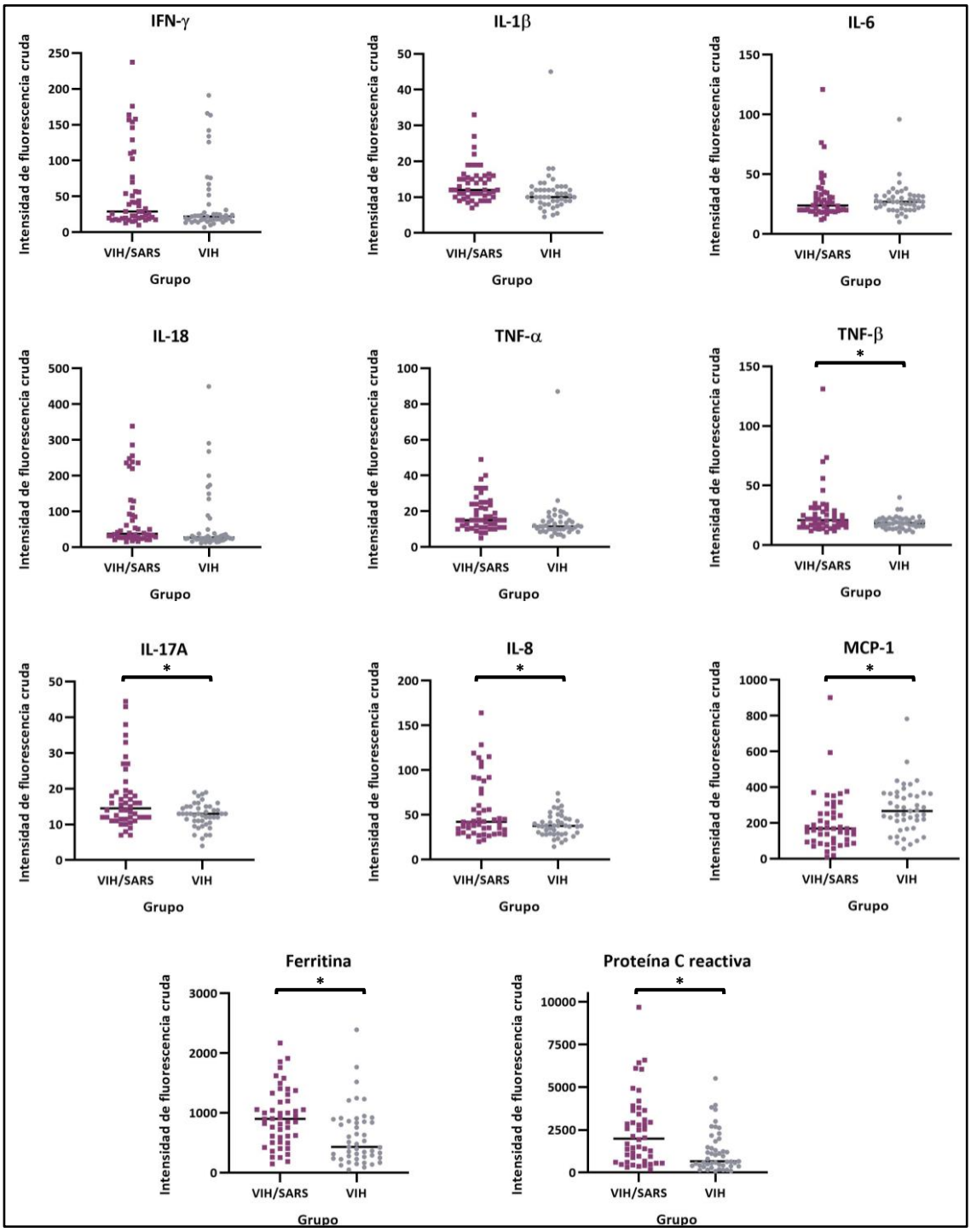


Figura 20. Impacto a medio plazo de la infección por SARS-CoV-2 en biomarcadores inflamatorios relacionados con ECV. Gráficos de puntos que representan los niveles de biomarcadores inflamatorios relacionadas con ECV. *Estadística*: Las diferencias entre los grupos se analizaron utilizando un MLG, ajustado por sexo y origen étnico. El p valor (p) se corrigió (q) por tasa de falso descubrimiento (FDR). *****Se definieron como valores

significativos aquellos con aAMR≥1,2 o ≤0,8 y q<0,1. *Abreviaturas:* ECV, enfermedad cardiovascular; GLM, modelo lineal generalizado.

Estudio 6: Caracterización del perfil de expresión de miARNs en PVIH que han resuelto la infección por SARS-CoV-2.

Finalmente, para concluir con este trabajo, se realizó este sexto estudio con el objetivo de caracterizar el perfil de expresión de miARNs en PVIH que han resuelto la infección por SARS-CoV-2.

4.6. Población de estudio

De la cohorte de estudio, se seleccionaron 40 individuos, distribuidos en 20 del grupo VIH/SARS y 20 del grupo VIH, mediante un proceso de selección basado en criterios demográficos específicos, asegurando la equidad en la representación de género, origen étnico e IMC entre ambos grupos.

Las características epidemiológicas y clínicas entre los dos subgrupos fueron comparables. Ninguna variable mostró diferencias significativas entre ambos grupos. La mediana de tiempo entre el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 mediante PCR+ y la recogida de muestras fue de 11 [RIC, 8-13] semanas (**Anexo VII**).

4.7. Análisis bioinformático del perfil miARNs plasmáticos

La secuenciación de miRNAs permitió alcanzar una media de 17,5 millones de lecturas por muestra. Tras eliminar adaptadores y realizar el control de calidad, se obtuvieron 8 millones de lecturas, rendimiento que coincide con lo esperado en la secuenciación de miRNAs en plasma. El análisis con miRDeep2 de las secuencias que superaron los filtros de calidad reveló que el 46,7% de las mismas (una media de 3,3 millones de lecturas) mapearon contra el genoma humano de referencia (ensamblado GRCh38), identificándose 1.371 microARNs (del total de 2.888 microARNs maduros registrados en miRBase v21) en todas las muestras de los pacientes que participaron en este estudio.

4.8. Expresión diferencial del perfil miARNs plasmáticos

4.8.1. Análisis exploratorio de la matriz de miARNs

En primer lugar, una vez normalizada la matriz de miARNs, (**Anexo VIII)**, se llevó a cabo un análisis exploratorio mediante una herramienta de análisis multidimensional como el PLS-DA.

Como se aprecia en la **Figura 21**, el modelo PLS-DA aplicado al perfil de expresión de miARNs mostró cierta separación entre los grupos VIH y VIH/SARS.

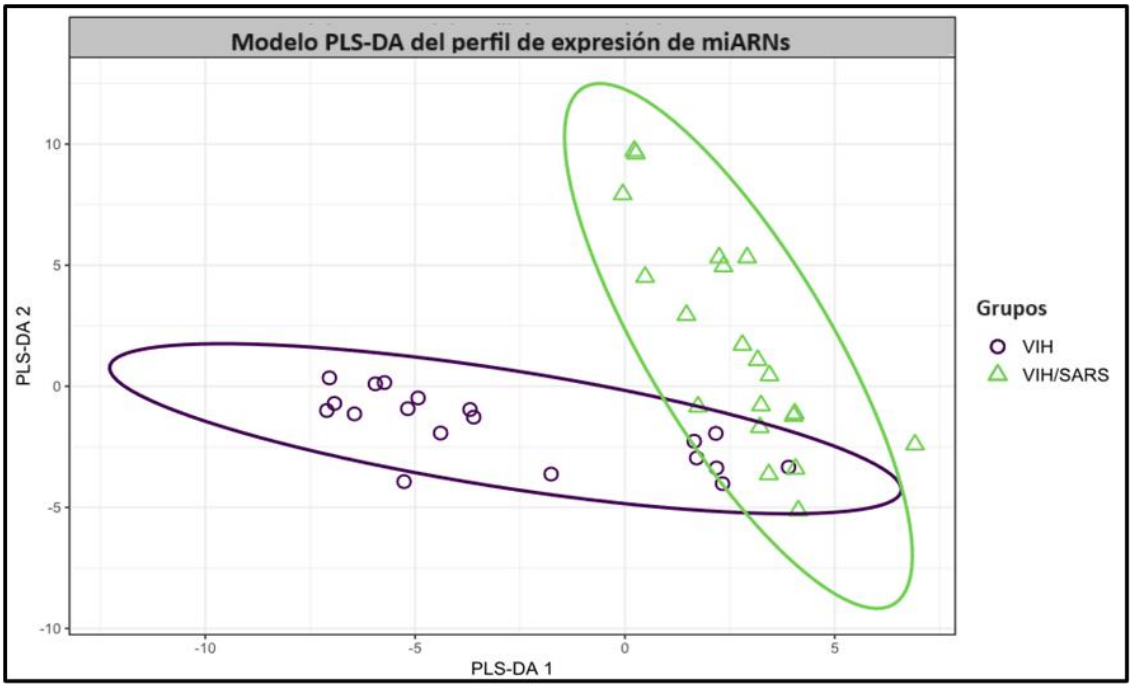


Figura 21. **Análisis PLS-DA del perfil de expresión de miARNs entre los grupos VIH/SARS y VIH.** Se utilizó la matriz de datos de miARNs previamente normalizada mediante el método TMM, de sus siglas en inglés "*trimed Mean of M-values*".

4.8.2. Análisis del perfil de expresión miARNs

A continuación, se llevó a cabo el análisis de expresión diferencial de miARNs entre el grupo VIH/SARS con respecto al grupo VIH. Para ello, se llevaron a cabo análisis mediante MLG con una distribución binomial negativo y sin ajustar, ya que era el modelo

óptimo. El perfil de miARNs de los individuos del grupo VIH se utilizó como referencia, y los del grupo VIH/SARS como grupo de contraste. La validez de este modelo se confirmó mediante un gráfico Q-Q, como se detalla en el **Anexo IX**.

En la **Tabla 8** y **Figura 22** se muestran los resultados del análisis del perfil de expresión diferencial de miARNs plasmáticos del grupo VIH/SARS con respecto al grupo control. Se identificaron 10 miARNs con expresión diferencial significativa, siendo 2 regulados a la baja (hsa-miR-197-3p y hsa-miR-574-3p) y 8 al alza (hsa-let-7a-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-let-7b-5p, hsa-let-7g-5p, hsa-miR-122-5p, hsa-miR-191-5p, hsa-miR-99a-5p y hsa-miR-10b-5p) en el grupo VIH/SARS.

Tabla 8. Identificación de miARNs con expresión diferencial en PVIH tras la infección por SARS-CoV-2.

ID mirBase	AMR	p	q
hsa-let-7a-5p	3,00[2,32-3,88]	**≤0,001**	***≤0,001****
hsa-let-7b-5p	2,33[1,56-3,48]	**≤0,001**	***≤0,001****
hsa-let-7f-5p	1,72[1,40-2,12]	**≤0,001**	***≤0,001****
hsa-let-7g-5p	1,77[1,34-2,36]	**≤0,001**	***≤0,001****
hsa-miR-10b-5p	2,03[1,25-3,29]	**0,004**	***0,027****
hsa-miR-99a-5p	2,83[1,64-4,89]	**≤0,001**	***≤0,001****
hsa-miR-122-5p	2,54[1,33-4,83]	**0,004**	***0,027****
hsa-miR-191-5p	1,56[1,30-1,88]	**≤0,001**	***≤0,001****
hsa-miR-197-3p	0,28[0,19-0,41]	**≤0,001**	***≤0,001****
hsa-miR-574-3p	0,52[0,37-0,72]	**≤0,001**	***≤0,001****

Notas. *Estadística*: Las estimas se obtuvieron como el ratio de la media aritmética (AMR), sin ajustar, mediante un MLG. El p valor (p) se corrigió (q) por tasa de falso descubrimiento (FDR). *Se definieron como valores significativos aquellos con aAMR≥1,2 o ≤0,8 y q<0,1. *Abreviaturas:* MLG, modelo lineal generalizado; p, valor de p; q, valor de p corregido.

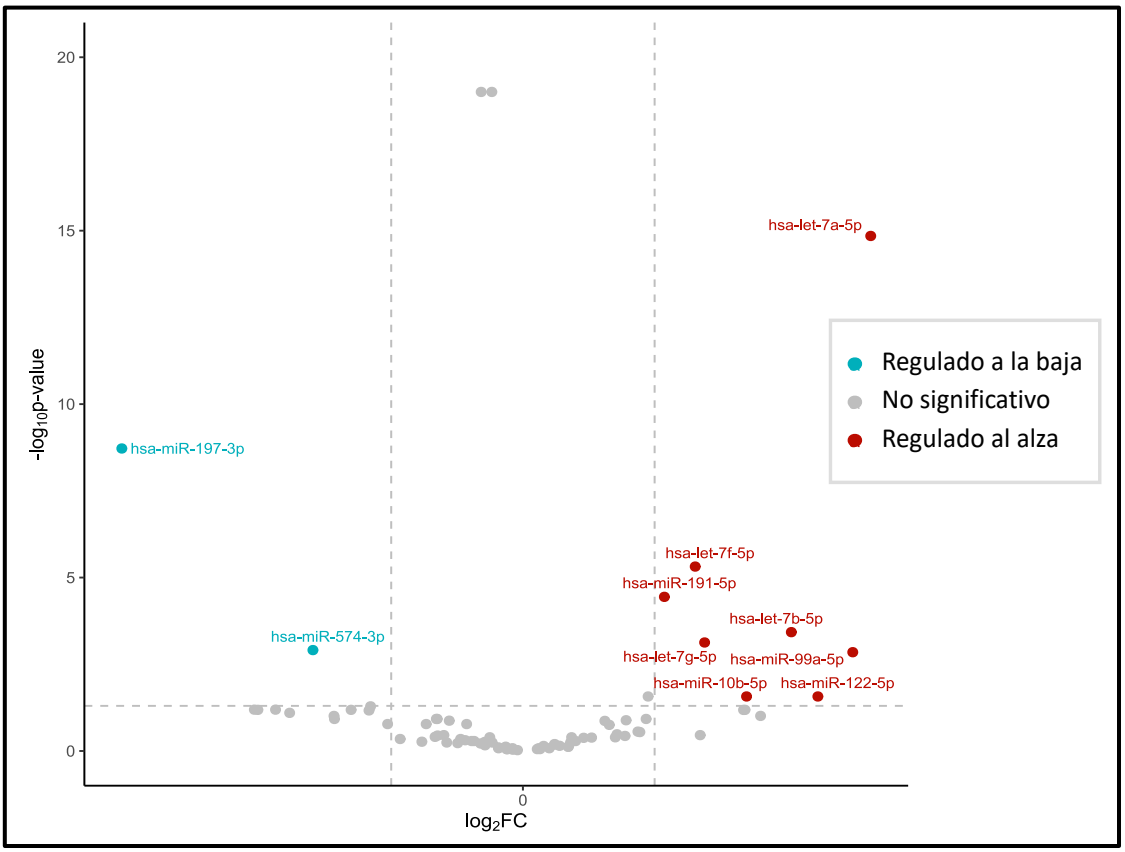


Figura 22. Impacto a medio plazo del SARS-CoV-2 en la expresión diferencial de miARNs en el plasma de PVIH. El gráfico tipo volcán ilustra los valores del log_2FC de los miARNs expresados de maneral diferencial en el grupo VIH/SARS con respecto al VIH. El color azul indica miARNs desregulados a la baja en el grupo VIH/SARS, el rojo indica los miARNs desregulados al alza, y en gris representa aquellos que no mostraron diferencias de expresión significativa entre ambos grupos.

4.8.3. Análisis funcional

La **Figura 23** muestra el análisis funcional de los 10 miARNs significativamente desregulados, revelando la sobreexpresión de 40 rutas biológicas. La ruta biológica de biosíntesis de ácidos grasos destacó como la más significativa. Relacionado con ácidos grasos también se observó una sobreexpresión de las rutas de biosíntesis y metabolismo de estos.

Entre las rutas identificadas, se observó una relación con diversos tipos de cánceres, incluyendo carcinogénesis viral, melanoma, leucemia mieloide crónica y cáncer de vejiga, entre otros. Otras rutas identificadas incluyeron la vía de señalización MAPK,

p53, TGF-beta, PI3K-Akt, entre otras. Asimismo, se observó sobreexpresada la ruta biológica de ciclo celular.

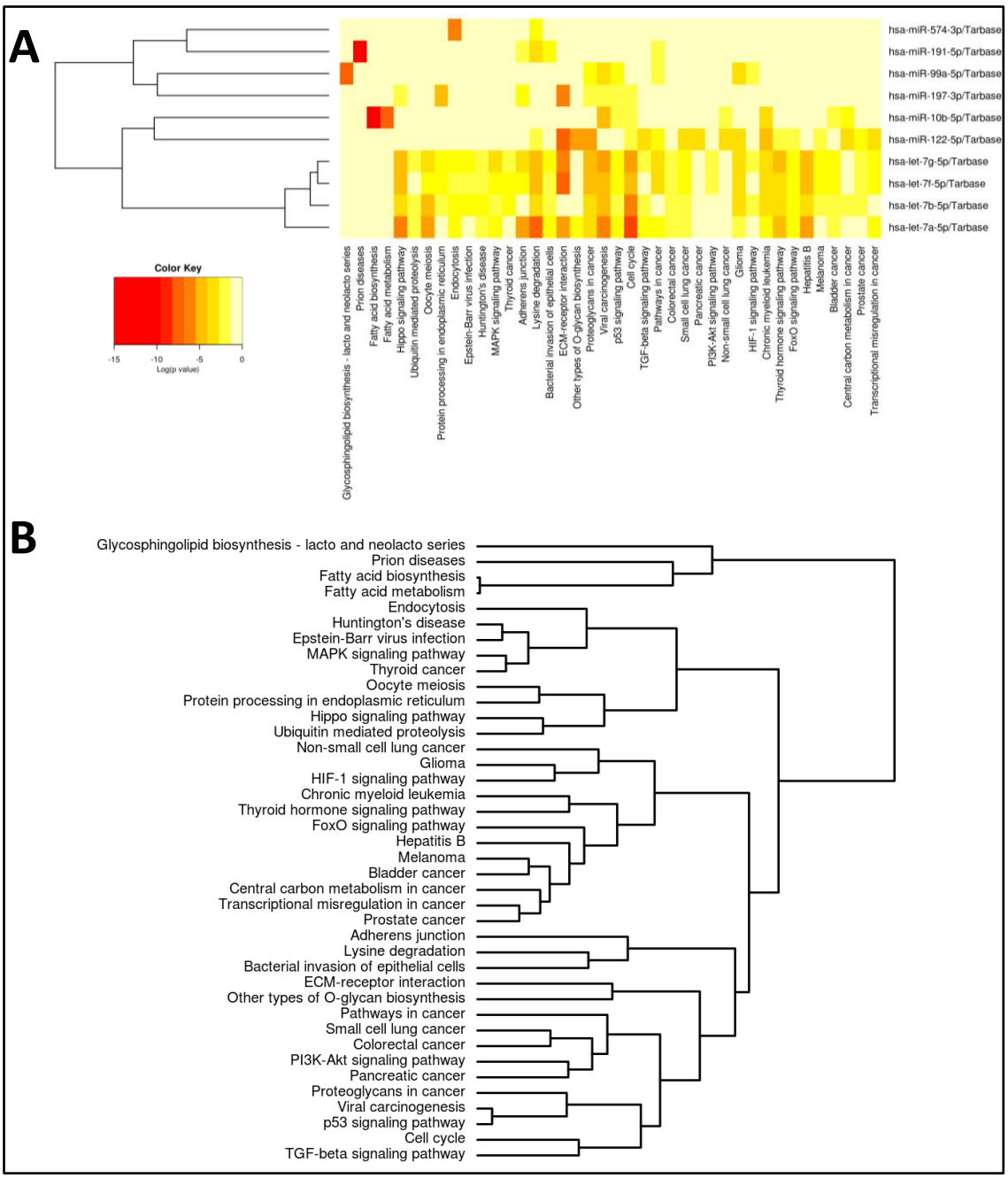


Figura 23. Análisis funcional de los miARNs significativamente desregulados en PVIH tras una mediana de 11 [RIC, 8-13] semanas desde el diagnóstico de SARS-CoV-2 mediante PCR+. A) Mapa de calor que muestra las rutas sobrerrepresentadas por los miRNA expresados diferencialmente. La intensidad del color rojo refleja la magnitud de la significación; **B)** Dendrograma que representa la relación entre las rutas biológicas identificadas.

5. DISCUSIÓN

En la actualidad, la salud pública se enfrenta a dos desafíos de magnitud global, la pandemia de la COVID-19, causada por el SARS-CoV-2, y la continua lucha contra la infección por el VIH. Está documentado que la infección por SARS-CoV-2 afecta seriamente a órganos vitales como el corazón, los riñones y el cerebro (Zaidi et al., 2024) causando complicaciones graves y a largo plazo, incluso una vez finalizada la enfermedad, empeorando la calidad de vida de los pacientes. Aunque se desconoce la fisiopatología de muchos de los problemas que causa esta infección, se sabe aún menos sobre las implicaciones en poblaciones especiales de alto riesgo, en particular individuos crónicamente infectados por el VIH. En la era actual de la terapia antirretroviral, una parte significativa de las PVIH con viremia controlada es de edad avanzada y presenta comorbilidades, ambos factores de riesgo asociados a la COVID-19, por lo que estas personas son potencialmente más vulnerables a la infección por SARS-CoV-2 y a las consecuencias residuales asociadas a la COVID-19 (Peluso et al., 2023).

Hasta la fecha, apenas hay estudios sobre las consecuencias a medio y largo plazo del SARS-CoV-2 en PVIH, enfermedad cardiovascular, trombosis, senescencia celular y alteraciones oncológicas (Kolossváry et al., 2023; Martin-Iguacel, 2023; Mazzitelli et al., 2022; Peluso et al., 2022). Comprender el impacto que la infección por SARS-CoV-2 tiene en el desarrollo de comorbilidades en individuos seropositivos para el VIH tiene dos propósitos generales: permite priorizar intervenciones como las medidas preventivas, la vacunación y el tratamiento temprano, y puede profundizar en la comprensión de la biología subyacente de la enfermedad (Yang & Iwasaki, 2022).

Población de estudio

El análisis detallado de las características clínicas y epidemiológicas evaluadas en la población estudiada mostró una notable similitud entre todos los participantes, aunque se observaron diferencias significativas en las variables epidemiológicas de sexo y origen étnico, estando el grupo VIH/SARS conformado por un mayor número de hombres e individuos de ascendencia caucásica en comparación con el grupo VIH. De acuerdo con la literatura, se han reportado notables diferencias entre los hombres y las mujeres en

las frecuencias y manifestaciones post-COVID-19, siendo las mujeres considerablemente más propensas que los hombres a desarrollarlas (Notarte et al., 2022; Rayner et al., 2024). Además, se ha descrito que las mujeres durante estas manifestaciones post-COVID-19 presentaron un aumento en las frecuencias de células T agotadas y en la secreción de citoquinas (Silva et al., 2024). También se ha sugerido que la raza negra y la asiática podrían tener una menor probabilidad de experimentar estas complicaciones (Rayner et al., 2024). Para atenuar el efecto de estas variables en las diferencias asociadas al impacto de la infección por SARS-CoV-2 en nuestro estudio, todos los MLGs fueron ajustados por las covariables de sexo y origen étnico. Sin embargo, en el subgrupo de población utilizado para el análisis del perfil de expresión de miARNs, los MLGs no fueron ajustados por estas variables, ya que estas dos variables no eran significativamente diferentes.

Por otro lado, los individuos del grupo VIH/SARS tras una mediana de 3 meses desde del diagnóstico positivo para SARS-CoV-2 mostraron un aumento significativo de los niveles de creatinina sérica en comparación con el grupo VIH. Nuestro estudio es el primero que ha observado a medio plazo un aumento en los **niveles de creatinina sérica** tras la infección SARS-CoV-2 en PVIH. La creatinina es un compuesto orgánico derivado de la degradación de la creatina que se produce en el músculo esquelético y se utiliza como biomarcador de la función renal. La creatinina se libera al torrente sanguíneo de manera constante y su eliminación principal ocurre a través de la filtración glomerular renal, por lo que cualquier alteración renal supondrá su acumulación en sangre, funcionando como un indicador sensible de la función renal (Siew & Matheny, 2015; Wong Vega et al., 2020). En línea con nuestras observaciones, Gameil y colaboradores (2021) también observaron niveles elevados de creatinina sérica tras la COVID-19, aunque en este caso en personas seronegativas para el VIH, tras al menos 3 meses después desde la negativización por PCR, en comparación con individuos sin antecedentes de la COVID-19 (Gameil et al., 2021). Este hecho concuerda con evidencias clínicas que sugieren una disfunción renal entre los 6 y 12 meses posteriores a la recuperación de la COVID-19, incluso en aquellos que no presentaron lesiones renales agudas durante la fase aguda de la infección por SARS-CoV-2 (Copur et al., 2022).

A pesar de la elevación significativa de estos niveles después de la infección por SARS-CoV-2, estos aún se mantuvieron dentro de los rangos considerados normales (0,56-0,98 mg/dL para hombres y 0,49-0,94 mg/dL para mujeres) (Finney et al., 2000). Sin embargo, esta observación no descarta la necesidad de realizar más investigaciones para comprender mejor los mecanismos subyacentes y evaluar el pronóstico a largo plazo de la función renal en este contexto.

En cuanto al resto de las variables clínicas, no se observaron diferencias significativas. Es importante señalar que, en relación con la infección por SARS-CoV-2, los individuos del grupo VIH/SARS experimentaron la COVID-19 de forma leve. Este hecho podría explicar la falta de diferencias significativas observadas en las variables clínicas relacionadas con el perfil hematológico, el perfil bioquímico hepático y el perfil metabólico entre los grupos VIH y VIH/SARS. Es posible que, como consecuencia de la baja severidad de la COVID-19, los efectos del SARS-CoV-2 en estas variables clínicas se hayan revertido a medio plazo.

Inflamación crónica y envejecimiento prematuro

Nuestros resultados muestran una desregulación al alza significativa de biomarcadores plasmáticos asociados a inflamación crónica (IL-4, IL-12p70 (IL12B), IL-17A, e IFN-α (IFNA1)) y a envejecimiento prematuro (TNF-β (LTA), IL-8 (CXCL8), IL-13, MIP-1α (CCL3) y MIP-1β (CCL4)) en el grupo VIH/SARS con respecto al grupo VIH.

Los resultados de Kolossváry et al. (2023) y Peluso et al. (2022), van en línea con nuestros resultados aunque las citoquinas inflamatorias con niveles significativamente más elevados diferían entre ellos y de las nuestras: CCL18 y CCL23, esta última vinculada específicamente al SASP (Kolossváry et al., 2023) y las citoquinas inflamatorias SASP IL-6, IP-10 (CXCL10) y TNF-α (TNF) (Peluso et al., 2022). La diferencia observada en las citoquinas alteradas pone de manifiesto la diversidad de la respuesta inflamatoria en este contexto.

Las diferencias observadas entre nuestro estudio y el de Kolossváry podrían deberse, al menos en parte, a las diferencias en las cohortes de estudio, así como en la metodología utilizada para evaluar las distintas proteínas. Por un lado, con respecto a la cohorte estudiada en el presente trabajo, todas las PVIH incluidas presentaban carga viral (CV) indetectable (<50 copias/ml) durante al menos un año antes de la toma de las muestras, a diferencia de la cohorte de Kolossváry (Kolossváry et al., 2023) que incluía hasta un 10% de individuos con fallo virológico (400 copias/ml) (European AIDS Clinical Society (EACS), 2022), lo que podría resultar en una activación inmunológica persistente (Crespo-Bermejo et al., 2021).

Por otro lado, se desconoce si las variantes del SARS-CoV-2 con las que ambas cohortes se infectaron fueron diferentes. Se ha documentado que la respuesta inmunitaria del huésped puede variar dependiendo del tipo de variante del SARS-CoV-2, lo que conlleva una variación en la magnitud y cantidad de citoquinas y quimioquinas (Shahbaz et al., 2023). Por lo tanto, aunque la variante específica del SARS-CoV-2 no se conoce para ninguna de las dos cohortes, las muestras de la cohorte de Kolossváry se recogieron entre mayo de 2020 y septiembre de 2021 en Estados Unidos (Kolossváry et al., 2023) por lo que las variantes más probables habrían sido Gamma o Delta (Mathieu et al., 2020). En nuestra cohorte, las muestras se recogieron durante la primera ola de la infección por SARS-CoV-2 en España, entre abril de 2020 y septiembre de 2020 por lo que todos los pacientes habrían sido infectados por la variante original de Wuhan.

En cuanto al diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2, los pacientes reclutados por Kolossváry y colaboradores (2023), incluyeron PVIH diagnosticados en base a un diagnóstico clínico de COVID-19 y/o una prueba positiva de detección rápida de antígenos de SARS-CoV-2 o PCR, confirmadas posteriormente mediante una prueba de anticuerpos (Kolossváry et al., 2023). Sin embargo, la ausencia de un diagnóstico por PCR+ de todos los participantes podría introducir un sesgo significativo en comparación con nuestra cohorte, dónde todos nuestros pacientes fueron diagnosticados con una PCR+. Finalmente, las diferentes metodologías utilizadas en ambos estudios también podrían haber influido en los resultados finales. Mientras que en nuestro estudio, la

técnica utilizada para medir los niveles de citoquinas fue el ensayo multiplex Luminex (ProcartaPlex Immunoassay) (Corporation, 2023), basado en el uso de microesferas codificadas por fluoróforos, las cuales están recubiertas con anticuerpos específicos para los analitos diana, el estudio de Kolossváry y colaboradore s (Kolossváry et al., 2023) utilizó la tecnología de ensayo de proximidad (PEA, de sus siglas en inglés "*proximity extension assay*") (Olink®) (Olink, 2023), basada en la identificación de proteínas mediante pares de anticuerpos conjugados a hebras de ADN.

Las diferencias observadas en relación con el estudio de Peluso y colaboradores (2022) podrían explicarse a nivel del grupo control empleado. Mientras que en nuestro estudio se emplearon como grupo control PVIH que no habían pasado la infección por SARS-CoV-2, Peluso y colaboradores (2022) utilizaron individuos seronegativos para VIH sin infección previa por SARS-CoV-2, como controles. Además, en este mismo estudio, tras analizar posibles secuelas en PVIH, se observó una correlación positiva de los niveles de las citoquinas IP-10 (CXCL10) y TNF-α (TNF) con un mayor riesgo de desarrollar secuelas post-agudas de la infección por SARS-CoV-2 en esta población (Peluso et al., 2022).

En relación con la población general se han observado resultados en la misma línea con tiempos de seguimiento similares. Bekbossynova y colaboradores (2023) describieron alteraciones en las citoquinas IL-13 e IL12p70 (IL12B), relacionadas con el SASP y citoquinas inflamatorias respectivamente, tras 3 meses después de la resolución de la infección por SARS-CoV-2 (Bekbossynova et al., 2023). En otros trabajos se ha observado que, tras un seguimiento más largo de 4,5 meses (Loretelli et al., 2021) o incluso de 1 año (Ren et al., 2023) desde la infección por SARS-CoV-2, se mantenían alterados los niveles de IL-8 (CXCL8), citoquina relacionada con el SASP. Las discrepancias observadas entre los diferentes estudios podrían atribuirse, al menos parcialmente, a las diferencias existentes tanto en el tiempo de seguimiento desde la infección por SARS-CoV-2 como en las características de las cohortes estudiadas.

Por lo tanto, la elevación de algunas de las citoquinas características del SASP puede indicar un perfil senescente mayor en el grupo VIH/SARS. En este sentido, de acuerdo

con un estudio realizado por Desai y colaboradores (2009), se conoce que las PVIH con una mediana de edad de 56 años y una buena reconstitución inmunológica y supresión viral presentaban características de células T similares a las de individuos con una mediana de edad de 88 años y seronegativos para VIH (Desai et al., 2009). Esto sugiere que las PVIH, debido a la infección por VIH, exhiben un estado inflamatorio comparable al de individuos de mayor edad, lo que puede contribuir a un proceso de envejecimiento acelerado en comparación con la población general (Chauvin & Sauce, 2022). Por lo tanto, la exacerbación del perfil inflamatorio y del perfil SASP observada en nuestro estudio tras la infección por SARS-CoV-2 en esta población podría acelerar su envejecimiento.

La acumulación de células senescentes en PVIH podría verse intensificada debido a la SIV que produce el virus SARS-CoV-2, contribuyendo al desarrollo de comorbilidades y a la mortalidad comúnmente asociada con la edad avanzada (Wissler Gerdes et al., 2022).

Riesgo de desarrollo de cáncer

La senescencia celular es uno de los principales factores asociados al desarrollo de cáncer. En este contexto, nuestros resultados muestran alteraciones significativamente más elevadas de proteínas asociadas a los PCI CD80, PD-L2 (PDCD1LG2), CD276, PD-1 (PDCD1), CD47, TIM-3 (HAVCR2), TIM-4 (TIMD4), CD137/4-1BB (TNFRSF9), GITR (TNFRSF18) y HVEM (TNFRSF14) en PVIH tras 3 meses desde el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2.

Hasta el momento, solo dos estudios previos han evaluado efectos a medio plazo de la infección por SARS-CoV-2 en estos biomarcadores plasmáticos asociados al riesgo de desarrollo de cáncer en PVIH (Kolossváry et al., 2023; Peluso et al., 2022). Nuestros resultados son similares a los reportados por Peluso et al. (2022), quienes observaron un aumento de la expresión de PD-1 (PDCD1) en las células T CD4+ en PVIH tras la infección por SARS-CoV-2 en comparación con individuos seronegativos para ambos virus (Peluso et al., 2022). Sin embargo, Kolossváry y colaboradores (2023) no observaron diferencias significativas en las proteínas asociadas a PCI solubles

analizados, entre las que se encontraban PD-1 (PDCD1), PD-L2 (PDCD1LG2), CD137/4-1BB (TNFRSF9), TIM-4 (TIMD4) y HVEM (TNFRSF14) (Kolossváry et al., 2023).

La falta de similitud con el estudio de Kolossváry y colaboradores (2023) podrían deberse, nuevamente, a las diferencias en las cohortes de estudio, la metodología utilizada, el periodo de recogida de las muestras y el tipo de prueba utilizado como criterio de inclusión (Kolossváry et al., 2023). Es importante resaltar que la inclusión de PVIH con CV > 50 copias/ml en el estudio de Kolossaváry y colaboradores (2022) podría influir directamente en los niveles de proteínas solubles asociadas a PCI. Esto se debe a que las infecciones por VIH no tratadas y virémicas se relacionan con niveles elevados de estas proteínas, como son PD-1 (PDCD1) y TIM-3 (HAVCR2) (Zilber et al., 2019). Por lo tanto, los propios controles PVIH seronegativos para SARS-CoV-2, utilizados en el estudio de Kolossváry y colaboradores (2023), podrían tener estas proteínas desreguladas debido a la presencia de virus con carga viral superior a 50 copias/ml.

En línea con nuestros resultados, en la población general también se ha evidenciado un aumento en la desregulación de las proteínas asociadas a PCI. Por ejemplo, Loretelli et al. (2021) reportaron alteraciones en los niveles de PD-1 (PDCD1) después de 4,5 meses (Loretelli et al., 2021), mientras que Hou et al. (2021) encontraron cambios en PD-1 (PDCD1), TIM-3 (HAVCR2), TIGIT, CD152 (CTLA-4) y CD39 después de 12 meses (Hou et al., 2021) desde la infección por SARS-CoV-2, en comparación con controles sanos.

Estas proteínas asociadas a PCI desempeñan un papel esencial en regular la activación de células T y prevenir la autoinmunidad (Funes et al., 2019). Por ello, la sobreexpresión de estos biomarcadores en el grupo VIH/SARS en comparación con el grupo VIH, sugieren un mantenimiento de la activación inmunológica, especialmente de células T, después de la infección por SARS-CoV-2 en PVIH. Esta activación persistente de células T podría conducir a un estado de agotamiento celular, asociado al desarrollo cáncer (Chow et al., 2022; Hashimoto et al., 2018).

De hecho, se ha informado que la infección por SARS-CoV-2 induce un estado de agotamiento celular (Barbosa et al., 2022). Por lo tanto, es probable que las PVIH, que

presentan un agotamiento basal de células T elevado debido a la infección por VIH (Eggena et al., 2005; Fenwick et al., 2019), experimenten un agotamiento aún más pronunciado tras la infección por SARS-CoV-2. Tanto Sharov y colaboradores (2021) como Roe y colaboradores (2021) sugieren la posibilidad de una interacción entre la infección por SARS-CoV-2 y la infección latente por VIH, que podría generar un efecto sinérgico, resultando en una mayor debilidad del sistema inmunitario en las PVIH (Roe, 2021; Sharov, 2021).

El agotamiento celular, acompañado de un aumento en los niveles de proteínas asociadas a PCI, como PD-1 (PDCD1) y TIM-3 (HAVCR2), se asocia con el desarrollo de cáncer (Heo et al., 2012; Khan et al., 2020; Riva et al., 2021). Aunque no existen estudios que evalúen el efecto de la sobreexpresión de proteínas asociadas a PCI después de la infección por SARS-CoV-2 en PVIH, el aumento de las proteínas asociadas a PCI en personas con un mayor agotamiento celular como las PVIH, podría suponer un mayor riesgo al desarrollo de tumores (Eggena et al., 2005; Fenwick et al., 2019).

Asociación entre la Inflamación crónica, el envejecimiento prematuro y el riesgo de desarrollo de cáncer

Prueba de la interrelación de los mecanismos de inflamación, envejecimiento prematuro y desarrollo temprano de cáncer, son la **correlación significativa y positiva** observada entre los niveles solubles de algunos de los biomarcadores asociados las mismas, como es el caso de IL-13 y TNF-β (LTA) que mostraron correlación con CD80, GITR (TNFRSF18) y HVEM (TNFRSF14); IL-4 estaba correlacionado con GITR (TNFRSF18); IL12p70 (IL12B) que presentó correlación con CD80; IL-17A estaba asociado con HVEM (TNFRSF14); MIP-1α (CCL3) mostró correlación con GITR (TNFRSF18); e IFN-α (IFNA1) que estaba correlacionado con CD80 y GITR (TNFRSF18). Esta interacción observada dentro del grupo VIH/SARS, ha sido observada previamente en otros contextos. Por ejemplo, en el caso del asma, durante la remodelación de las vías respiratorias, la citoquina IL-13 es esencial, y su producción está vinculada a la expresión de HVEM (TNFRSF14) en los

eosinófilos, demostrando una correlación positiva entre los niveles de ambas (Doherty et al., 2011).

Observamos, además, que los niveles elevados de citoquinas inflamatorias, algunas de las cuales están asociadas al SASP, están relacionados con mayores niveles de proteínas asociadas a PCI, y viceversa. Estos resultados sugieren una posible interrelación entre los estados de agotamiento y senescencia característicos de las células T, ambos fundamentales en el microambiente tumoral (Zhao et al., 2020). Por tanto, se refuerza la hipótesis de que las PVIH después de la infección por SARS-CoV-2 verían incrementada su activación crónica persistente e inflamación asociada a la infección por VIH, acelerando un envejecimiento prematuro y el desarrollo de patologías asociadas como el desarrollo de cáncer.

Sin embargo, al tratarse de niveles solubles medidos en plasma, se necesitarían estudios adicionales para comprender los mecanismos moleculares y las vías de señalización responsables de la liberación de estas proteínas asociadas a PCI y citoquinas inflamatorias.

Riesgo de desarrollo de ECV

La infección por SARS-CoV-2 no solo tiene efectos proinflamatorios, sino que también desencadena un estado protrombótico, aumentando así el riesgo de complicaciones cardiovasculares (Beyerstedt et al., 2021; Elshafei et al., 2021; Gao et al., 2022).

Nuestros resultados muestran niveles significativamente más altos de biomarcadores plasmáticos relacionados con ECV, entre los que se encuentran el NT-proBNP y diversos componentes de la cascada de coagulación (vWF, factores de coagulación (IX, XI, XII y XIII), antitrombina, protrombina, proteínas S y C dependientes de vitamina K, y dímero D), en PVIH tras 3 meses desde el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2.

Sin embargo, en un diseño experimental similar en PVIH, Kolossváry y colaboradores (2023) no encontraron diferencias significativas en los niveles de NT-proBNP, ni en factores de coagulación como la proteína C dependiente de vitamina K, el factor XI y

vWF, tras 4 meses de la infección por SARS-CoV-2 (Kolossváry et al., 2023). La evidencia clínica sugiere que la COVID-19 representa un riesgo adicional de ECV en PVIH, dado que se observó un aumento del 30% en el riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares después de contraer la COVID-19, al menos durante el año siguiente a la misma (Martín-Iguacel et al., 2024). Además, los resultados obtenidos por Mazzitelli y colaboradores (2022) respaldan esta asociación, describiendo la aparición de complicaciones cardiovasculares significativas, como infarto y arritmias, en dos individuos seropositivos para el VIH durante los 3 meses posteriores a la infección por SARS-CoV-2 (Mazzitelli et al., 2022).

La falta de coincidencia observada entre nuestro estudio y el de Kolossváry (2023) podrían atribuirse a las diferencias inherentes en el diseño experimental, en las poblaciones de estudio, así como en la metodología tal y como se ha indicado previamente.

Debido al escaso número de estudios específicos sobre PVIH en el periodo post-COVID-19 (Kolossváry et al., 2023; Martin-Iguacel, 2023; Mazzitelli et al., 2022), se compararon nuestros hallazgos con los de otros trabajos realizados en la población general y centrados en biomarcadores asociados a eventos cardiovasculares. Estudios como los de Townsend y colaboradores (2021), Lehmann y colaboradores (2021), Kalaivani y colaboradores (2022) y Ranucci y colaboradores (2023) confirman la presencia de niveles más altos de dímero D en individuos recuperados de la COVID-19, persistiendo incluso hasta los 17 meses de seguimiento (Kalaivani & Dinakar, 2022; Lehmann et al., 2021; Ranucci et al., 2023; Townsend et al., 2021). Además, estudios adicionales relacionados con el perfil de coagulación, han mostrado una activación sostenida de las células endoteliales y niveles significativamente elevados del biomarcador vWF a los 3 (Willems et al., 2022) y 18 meses de seguimiento (Willems et al., 2023). En línea con estas observaciones, Pretorius y colaboradores (2021) también observaron niveles de vWF superiores en pacientes seronegativos para el VIH con post-COVID-19 (Pretorius et al., 2021). Sin embargo, aún no se ha establecido una clara asociación entre este patrón protrombótico a largo plazo y manifestaciones clínicas evidentes.

Además, en relación con ECV, los síntomas post-COVID-19 se asocian con niveles elevados de NT-proBNP a partir de las 3 semanas hasta los 2 meses después de la recuperación (Sarıçam et al., 2021). Esto podría sugerir la predisposición de desarrollar secuelas entre las PVIH del grupo VIH/SARS. Además, la presencia de niveles elevados de NT-proBNP en un entorno proinflamatorio sugiere una mayor predisposición a desarrollar eventos cardiovasculares, tal y como se ha descrito previamente en población general (Rudolf et al., 2020).

En el contexto de ECV, el grupo VIH/SARS mostró una marcada **desregulación de biomarcadores inflamatorios asociados a eventos cardiovasculares** (TNF-β (LTA), IL-17A, IL-8 (CXCL8), MCP-1 (CCL2), ferritina y proteína C reactiva), tras la infección por SARS-CoV-2. Debido al papel que juega la inflamación en el desarrollo y progresión de la ECV, la alteración de estas citoquinas y proteínas se podría interpretar como un potencial indicador de riesgo cardiovascular (An et al., 2019; Kuppa et al., 2023; Nash et al., 2019; Niu & Kolattukudy, 2009; Robert & Miossec, 2017; Williams et al., 2002). De hecho, un estudio preliminar en la población general sugirió que el desequilibrio proinflamatorio posterior a la infección por SARS-CoV-2 podría influir en el desarrollo de eventos cardiovasculares, como edema miocárdico y fibrosis, en individuos post-COVID-19 a largo plazo (Simonini et al., 2022).

En conjunto, nuestros resultados sugieren que el sistema hemostático sigue respondiendo a los efectos residuales de la COVID-19 incluso después de 12 semanas desde su diagnóstico. Sin embargo, estas observaciones son meramente especulativas, ya que en el contexto de la infección por SARS-CoV-2 en PVIH, a día de hoy no hay suficiente información que establezca una clara asociación entre alteraciones del perfil de coagulación, los biomarcadores de enfermedad cardiaca y biomarcadores inflamatorios asociados a ECV con manifestaciones clínicas evidentes a largo plazo.

Perfil de expresión de miARNs en PVIH que han resuelto la infección por SARS-CoV-2.

Para obtener un mecanismo adicional que permitiese evaluar de forma global los hallazgos previos, planteamos el análisis de expresión de miRNAs para ver si las rutas desreguladas por estos iban en línea con los resultados obtenidos hasta el momento. Tras el análisis masivo de expresión de miRNAs, observamos que los individuos del grupo VIH/SARS mostraron un aumento de los niveles de expresión de los miARNs plasmáticos hsa-let-7a-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-let-7b-5p, hsa-let-7g-5p, hsa-miR-10b-5p, hsa-miR-99a-5p, hsa-miR-122-5p y hsa-miR-191-5p y una disminución de hsa-miR-197-3p y hsa-miR-574-3p en comparación con el grupo VIH. Aunque no se ha descrito específicamente el papel de estos miARNs en las PVIH después de la infección por SARS-CoV-2, se conocen algunas de sus funciones reguladoras sobre la expresión génica, tal y como se indica a continuación.

Los miARNs hsa-let-7a-5p, hsa-let-7f-5p, hsa-let-7b-5p y hsa-let-7g-5p, que muestran un aumento significativo en el grupo VIH/SARS, pertenecen a la familia de miARNs let-7. Esta familia está muy conservada en la evolución y existen múltiples genes en diferentes cromosomas que codifican para los distintos miembros de la familia. Su expresión es silente en etapas embrionarias, teniendo un papel clave en la diferenciación celular. En células cancerosas se ha observado que esta familia de miRNAs funciona normalmente como supresor de tumores y metástasis (Sun et al., 2014; Sun et al., 2016), aunque también se han observado casos en los que actúa como un oncogén (Chirshev et al., 2019). En pacientes con cáncer como el carcinoma tiroideo papilar se ha observado que los miRNAs de la familia let-7 están aumentados y pueden servir como una herramienta diagnóstica para este tipo de cáncer (Perdas et al., 2020), pero sus niveles pueden variar según el tipo de cáncer habiéndose observado elevado también en cáncer de mama, colon y renal (Chirshev et al., 2019). En el contexto de la infección por SARS-CoV-2, se ha observado que algunos miembros de esta familia, como es el let-7b-5p, están incrementados durante la COVID-19, siendo este miRNA uno de los reguladores clave tanto del receptor ECA2 como de procesos trombóticos y de coagulación (Eyileten et al.,

2022). Con todo ello, nuestros resultados avalan que la desregulación de miRNAs refleja una desregulación de los mecanismos trombóticos, impactando tanto en el perfil de proteínas de coagulación observadas, como en el perfil de citoquinas identificadas. Tanto es así, que hay evidencias de una asociación entre la familia de let 7 y la producción de citoquinas inflamatorias tales como IL-6 y TNF-α (TNF) (Xie et al., 2021).

Además, la función reguladora de los miARNs en el control de la respuesta inflamatoria también se sugiere por el aumento en la expresión del hsa-miR-99a-5p. Este miARN es esencial en la regulación de la activación y citotoxicidad de las células T, donde su sobreexpresión inhibe la activación de células T y promueve su apoptosis (Zhu et al., 2019). También se ha observado desregulado en algunos tipos de cáncer como en el de mama, dónde su mayor presencia se ha observado en pacientes con cáncer en estadios iniciales (Garrido-Cano et al., 2020), siendo propuesto como un posible marcador no invasivo de cáncer de mama. Por lo tanto, el aumento de expresión de este miRNA estaría en línea con los resultados obtenidos en relación con el riesgo de cáncer, avalando el posible incremento del riesgo que pueden tener las PVIH tras la infección por SARS-CoV-2 para desarrollar cáncer. Por otro lado, el hsa-miR-99a-5p es uno de los miRNAs implicados en el sistema respiratorio y que modula el receptor ECA2 (Rafat et al., 2021).

Los dos únicos miARNs significativamente disminuidos en el grupo VIH/SARS también podrían estar relacionados con el riesgo de cáncer. Por un lado, estudios previos han descrito el papel de hsa-miR-574-3p como supresor tumoral (Fuse et al., 2012; Tatarano et al., 2012; M. Wang et al., 2019; Yang et al., 2018), por ejemplo, en el cáncer gástrico, donde hsa-miR-574-3p está desregulado a la baja (Su et al., 2012). Tanto es así que se considera un biomarcador pronóstico prometedor en distintos tipos de cáncer, como en el de mama (Krishnan et al., 2015) o de hígado (Gui et al., 2011; Shen et al., 2018). De forma similar, la disminución de expresión observada en el hsa miR-197-3p podría estar asociada al desarrollo de varios tipos de cáncer y patologías como cáncer de mama, cáncer gástrico o hepatitis, entre otros (Wang et al., 2016). Por lo tanto, la disminución en la expresión de estos dos miARN también estaría en consonancia con los hallazgos

obtenidos en el estudio de biomarcadores plasmáticos asociados al riesgo de cáncer, respaldando la hipótesis de un posible aumento en el riesgo de desarrollar cáncer en PVIH tras la infección por SARS-CoV-2.

Por otro lado, alguno de los miARNs significativamente aumentado en el grupo VIH/SARS también podrían estar relacionado con el desarrollo de otras secuelas, como es el caso de las neurológicas. En este sentido, el aumento de hsa-miR-10b-5p podría afectar al desarrollo de las células neuronales por reducir la expresión génica del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). Este factor de crecimiento es necesario para la supervivencia y diferenciación de las neuronas estriatales, cuya desregulación puede conducir a su muerte (Hoss et al., 2015). Estos hallazgos, unidos a la evidencia de que la COVID-19 produce manifestaciones neurológicas durante la primera infección y síntomas persistentes de forma posterior, como dolor de cabeza, confusión, mialgias y distintos tipos de neuropatías (Paradiso et al., 2023) ponen de manifiesto que niveles elevados del hsa-miR-10b-5p podrían estar relacionados con un mayor riesgo de desarrollo de secuelas neurológicas a medio y largo plazo. Lamentablemente no ha sido posible realizar una evaluación de estas alteraciones a los pacientes, por lo que se desconoce si en el momento de la toma de la muestra o en la actualidad, las PVIH del grupo VIH/SARS han desarrollado algunos de estos síntomas.

En línea con estos resultados, también se observó un aumento de expresión del hsa-miR-191-5p, el cual tiene un papel clave en varias enfermedades neurodegenerativas, siendo considerado un excelente biomarcador no invasivo para el Alzheimer (Wang et al., 2022), entre otras. Cabe resaltar que además de tener un papel relevante en la COVID-19 al tener como diana el receptor ECA2 (Bueno et al., 2022), también está entre sus genes diana el que codifica para la proteína priónica (PRNP, de sus siglas en inglés "*prion protein*"), que tiene un papel clave en el desarrollo neuronal y la plasticidad sináptica. Estas evidencias han llevado a algunos autores a proponer que la proteína PRNP pueda estar implicada en la patogénesis del síndrome post-COVID-19 y que el mecanismo por el cual sucede esta afectación podría estar mediado por el hsa-miR-191-5p (Grade et al., 2022). Además, evidencias recientes sugieren la posible relación entre

la enfermedad priónica y la COVID-19, tras la observación de casos con enfermedades priónicas después de la infección por SARS-CoV-2 (Leccese et al., 2023). Algunos autores sugieren la posibilidad de que la condición post-COVID-19 pueda inducir la emergencia espontánea de priones, lo que podría explicar algunas de las manifestaciones neurológicas observadas después de la infección aguda (Stefano et al., 2023).

Aunque no se ha descrito un mecanismo que explique una conexión directa entre la expresión aumentada de hsa-mir-191-5p, la PRNP y la evidencia clínica de manifestaciones priónicas después de la COVID-19 (Leccese et al., 2023), en base a nuestros resultados y a la literatura existente, la elevación del hsa-miR-191-5p observada en el grupo VIH/SARS podría ser un posible marcador temprano de secuelas neurológicas post-COVID-19.

La desregulación de estos microRNAs en su conjunto muestra una desregulación de rutas biológicas entre las que se incluyen diversos tipos de cáncer, vías de señalización y ciclo celular, entre otras. Estos resultados avalan la función individual de cada uno de estos miARNs, tal y como se ha descrito anteriormente. Pero el análisis de rutas biológicas también reflejó la alteración de la biosíntesis y metabolismo de ácidos grasos. En línea con un estudio reciente de Pérez-Torres y colaboradores (2021) que observó efectos del SARS-CoV-2 en el metabolismo de ácidos grasos, modificando los perfiles de ácidos grasos totales, fosfolípidos y ácidos grasos no esterificados (Pérez-Torres et al., 2021), nuestros resultados muestran que las rutas encargadas de la biosíntesis y metabolismo de ácidos grasos se encuentran sobreexpresadas en el grupo VIH/SARS. Por tanto, es probable que el huésped esté usando este metabolismo celular con el objetivo de reparar los daños causados por el virus en las membranas celulares (Pérez-Torres et al., 2021).

Por último, la observación de la sobreexpresión de vías de señalización como PI3K-Akt y MAPK podría estar relacionada con la regulación de la respuesta inmunitaria para atenuar la inflamación asociada con la infección por SARS-CoV-2. Específicamente, con el objetivo de atenuar la tormenta de citoquinas provocada por el SARS-CoV-2 y ese

estado hiperinflamatorio característico de la fase aguda meses después de su resolución (Xie et al., 2021).

En definitiva, nuestros resultados indican una activación de mecanismos regulatorios mediante la sobreexpresión de miARNs que pueden atenuar la respuesta inmunitaria y detener el ciclo celular en células posiblemente agotadas. Además, sugieren un mayor riesgo de desarrollo de comorbilidades debido a la sobreexpresión y subexpresión de miARNs asociados con la aparición de patologías en PVIH tras la infección por SARS-CoV-2.

LIMITACIONES

Varios aspectos deben considerarse para interpretar correctamente nuestros datos. Este estudio cuenta con un tamaño muestral limitado, lo que podría haber restringido la posibilidad de encontrar diferencias significativas con menor estima. Sin embargo, la aplicación de modelos estadísticos apropiados ajustados por covariables clínicas y epidemiológicas, además de un ajuste por comparaciones múltiples, mejora la solidez de nuestros resultados limitando la obtención de falsos positivos.

Por otro lado, el presente trabajo no ha podido realizarse con un diseño longitudinal, en el que el mismo paciente fuera analizado antes y después de la infección por SARS-CoV-2. Esta limitación se ha salvado comparando dos grupos de PVIH con características clínicas muy similares, tal y como se observa por la casi total ausencia de diferencias significativas en las variables clínicas y epidemiológicas entre los dos grupos de estudio.

No ha sido posible confirmar la negatividad del SARS-CoV-2 mediante una prueba de PCR después de la recuperación. La falta de esta determinación supone un sesgo al desconocer posibles complicaciones de la infección primaria y el momento de la resolución de la misma. Sin embargo, ninguno de los pacientes tuvo que ser hospitalizado ni desarrolló una enfermedad grave, por lo que asumimos que todos resolvieron la enfermedad de forma satisfactoria y dentro de los límites más frecuentes, 1 mes (B. Liu et al., 2021).

Estudios adicionales con seguimientos más prolongados deberían realizarse para analizar tanto la dinámica de las respuestas inmunes celulares como la aparición de posibles eventos relacionados con la inflamación crónica, el envejecimiento prematuro, el riesgo de desarrollo de cáncer y la ECV en PVIH después de la infección por COVID-19.

6. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS

CONCLUSIONES

1. La infección por SARS-CoV-2 y posterior resolución en PVIH, conlleva, a medio plazo, a una desregulación al alza en los niveles de **biomarcadores plasmáticos asociados a inflamación crónica** (destacando IL-4, IL-12B, IL-17A e IFN-α (IFNA1)) **y envejecimiento prematuro** (destacando TNF-β (LTA), IL-8 (CXCL8), IL-13, MIP-1α (CCL3) y MIP-1β (CCL4)) que podría conducir a un envejecimiento acelerado del sistema inmune y, por lo tanto, el potencial desarrollo de comorbilidades y a la mortalidad comúnmente asociada con la edad avanzada.

2. El agotamiento celular, acompañado con la desregulación al alza en los niveles de **biomarcadores asociadas a PCI** (destacando CD80, PD-L2 (PDCD1LG2), CD276, PD-1 (PDCD1), CD47, TIM-3 (HAVCR2), TIM-4 (TIMD4), CD137 (TNFRSF9), GITR (TNFRSF18) y HVEM (TNFRSF14)) podría potencialmente conducir al desarrollo de tumorigénesis de manera temprana en PVIH tras la infección por SARS-CoV-2.

3. El aumento en los niveles de **marcadores asociados al desarrollo de la ECV** (destacando el NT-proBNP y proteínas de la cascada de coagulación, entre las que se encuentran el vWF, los factores de coagulación IX, XI, XII, XIII, la antitrombina, la protrombina, las proteínas S y C dependientes de vitamina K y el dímero D) en PVIH que han padecido la COVID-19, que, en presencia de un entorno proinflamatorio, podría influir en el desarrollo de ECV.

4. En la infección por SARS-CoV-2 a medio plazo en PVIH resultó en la una **expresión diferencial de 10 miARNs**, los cuales son considerados como biomarcadores del desarrollo de distintos tipos de cánceres (familia miARN de let 7 (a, f, b y g), hsa-miR-99a-5p, hsa-miR-574-3p, hsa-miR-197-3p, hsa-miR-122-5p) y secuelas/patologías neurológicas (hsa-miR-10b-5p y hsa-miR-191-5p), por lo que la desregulación de estos miARNs a medio plazo podría indicar un desarrollo de estas patologías a largo plazo.

CONCLUSIONS

1. SARS-CoV-2 infection and subsequent resolution in PHIV lead, in the mid-term, to an upward dysregulation in the levels of **plasma biomarkers associated with chronic inflammation** (such as IL-4, IL-12B, IL-17A and IFN-α (IFNA1)) and **premature aging** (such as TNF-β (LTA), IL-8 (CXCL8), IL-13, MIP-1α (CCL3) and MIP-1β (CCL4)) which could accelerate aging of the immune system and potentially lead to the development of comorbidities and mortality commonly associated with advanced age.

2. Cellular depletion, coupled with upregulation of **biomarkers associated with immune checkpoints** (such as CD80, PD-L2 (PDCD1LG2), CD276, PD-1 (PDCD1), CD47, TIM-3 (HAVCR2), TIM-4 (TIMD4), CD137 (TNFRSF9), GITR (TNFRSF18) and HVEM (TNFRSF14)), could potentially lead to the early development of tumorigenesis in PHIV following SARS-CoV-2 infection.

3. Increased levels of **markers associated with the development of CVD** (such as NT-proBNP and proteins of the coagulation cascade, including vWF, coagulation factors IX, XI, XII, XIII, antithrombin, prothrombin, vitamin K-dependent proteins S and C, and D-dimer) in PHIV who have had COVID-19. In the presence of a proinflammatory environment, these markers may influence the development of CVD.

4. Mid-term SARS-CoV-2 infection in PHIV resulted in **differential expression of 10 miRNAs**, which are considered biomarkers for the development of different types of **cancers** (miRNA family of let 7 (a, f, b and g), hsa-miR-99a-5p, hsa-miR-574-3p, hsa-miR-197-3p, hsa-miR-122-5p) and **neurological sequelae/pathologies** (hsa-miR-10b-5p and hsa-miR-191-5p). Dysregulation of these miRNAs in the mid-term could indicate the development of these pathologies in the long-term.

7. BIBLIOGRAFÍA

Akase, I. E., Musa, B. O. P., Obiako, R. O., Ahmad Elfulatiy, A., & Mohammed, A. A. (2017). Immune Dysfunction in HIV: A Possible Role for Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines in HIV Staging. *J Immunol Res*, *2017*, 4128398. https://doi.org/10.1155/2017/4128398

An, Z., Li, J., Yu, J., Wang, X., Gao, H., Zhang, W., . . . Liang, X. (2019). Neutrophil extracellular traps induced by IL-8 aggravate atherosclerosis via activation NF-κB signaling in macrophages. *Cell Cycle*, *18*(21), 2928-2938. https://doi.org/10.1080/15384101.2019.1662678

Barbosa, L. V., Prá, D. M. M., Nagashima, S., Pereira, M. R. C., Stocco, R. B., da Silva, F. L. F., . . . de Noronha, L. (2022). Immune Response Gaps Linked to SARS-CoV-2 Infection: Cellular Exhaustion, Senescence, or Both? *Int J Mol Sci*, *23*(22). https://doi.org/10.3390/ijms232213734

Barré-Sinoussi, F., Chermann, J. C., Rey, F., Nugeyre, M. T., Chamaret, S., Gruest, J., . . . Montagnier, L. (1983). Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*, *220*(4599), 868-871. https://doi.org/10.1126/science.6189183

Bartekova, M., Radosinska, J., Jelemensky, M., & Dhalla, N. S. (2018). Role of cytokines and inflammation in heart function during health and disease. *Heart Fail Rev*, *23*(5), 733-758. https://doi.org/10.1007/s10741-018-9716-x

Bekbossynova, M., Tauekelova, A., Sailybayeva, A., Kozhakhmetov, S., Mussabay, K., Chulenbayeva, L., . . . Kushugulova, A. (2023). Unraveling Acute and Post-COVID Cytokine Patterns to Anticipate Future Challenges. *J Clin Med*, *12*(16). https://doi.org/10.3390/jcm12165224

Bellesi, S., Metafuni, E., Hohaus, S., Maiolo, E., Marchionni, F., D'Innocenzo, S., . . . De Stefano, V. (2020). Increased CD95 (Fas) and PD-1 expression in peripheral blood T lymphocytes in COVID-19 patients. *Br J Haematol*, *191*(2), 207-211. https://doi.org/10.1111/bjh.17034

Beyerstedt, S., Casaro, E. B., & Rangel, É. (2021). COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, *40*(5), 905-919. https://doi.org/10.1007/s10096-020-04138-6

Bhaskaran, K., Hamouda, O., Sannes, M., Boufassa, F., Johnson, A. M., Lambert, P. C., . . . Collaboration, C. (2008). Changes in the risk of death after HIV seroconversion compared with mortality in the general population. *JAMA*, *300*(1), 51-59. https://doi.org/10.1001/jama.300.1.51

Bibas, M., Biava, G., & Antinori, A. (2011). HIV-Associated Venous Thromboembolism. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, *3*(1), e2011030. https://doi.org/10.4084/MJHID.2011.030

Borish, L. C., & Steinke, J. W. (2003). 2. Cytokines and chemokines. *J Allergy Clin Immunol*, *111*(2 Suppl), S460-475. https://doi.org/10.1067/mai.2003.108

Boussiotis, V. A., Chatterjee, P., & Li, L. (2014). Biochemical signaling of PD-1 on T cells and its functional implications. *Cancer J*, *20*(4), 265-271. https://doi.org/10.1097/PPO.0000000000000059

Braumüller, H., Wieder, T., Brenner, E., Aßmann, S., Hahn, M., Alkhaled, M., . . . Röcken, M. (2013). T-helper-1-cell cytokines drive cancer into senescence. *Nature*, *494*(7437), 361-365. https://doi.org/10.1038/nature11824

Breen, E. J., Polaskova, V., & Khan, A. (2015). Bead-based multiplex immuno-assays for cytokines, chemokines, growth factors and other analytes: median fluorescence intensities versus their derived absolute concentration values for statistical analysis. *Cytokine*, *71*(2), 188-198. https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.10.030

Brown, M. H., Boles, K., van der Merwe, P. A., Kumar, V., Mathew, P. A., & Barclay, A. N. (1998). 2B4, the natural killer and T cell immunoglobulin superfamily surface protein, is a ligand for CD48. *J Exp Med*, *188*(11), 2083-2090. https://doi.org/10.1084/jem.188.11.2083

Bueno, L. C. M., Paim, L. R., Minin, E. O. Z., da Silva, L. M., Mendes, P. R., Kiyota, T. A., . . . Schreiber, R. (2022). Increased Serum Mir-150-3p Expression Is Associated with Radiological Lung Injury Improvement in Patients with COVID-19. *Viruses*, *14*(7). https://doi.org/10.3390/v14071363

Burgos, K. L., Javaherian, A., Bomprezzi, R., Ghaffari, L., Rhodes, S., Courtright, A., . . . Van Keuren-Jensen, K. (2013). Identification of extracellular miRNA in human cerebrospinal fluid by next-generation sequencing. *RNA*, *19*(5), 712-722. https://doi.org/10.1261/rna.036863.112

Catalanotto, C., Cogoni, C., & Zardo, G. (2016). MicroRNA in Control of Gene Expression: An Overview of Nuclear Functions. *Int J Mol Sci*, *17*(10). https://doi.org/10.3390/ijms17101712

Communicable Disease Center (CDC). (1981). *Pneumocystis Pneumonia --- Los Angeles.* Recuperado el 15 de noviembre de https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/june_5.htm

Communicable Disease Center (CDC). (1982). Update on acquired immune deficiency syndrome (AIDS)--United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, *31*(37), 507-508, 513-504.

Communicable Disease Center (CDC). (2022). *Tratamiento del VIH*. Recuperado el 15 de septiembre de https://www.cdc.gov/hiv/spanish/basics/livingwithhiv/treatment.html

Chakrabarti, R., Kapse, B., & Mukherjee, G. (2019). Soluble immune checkpoint molecules: Serum markers for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Rep (Hoboken)*, *2*(4), e1160. https://doi.org/10.1002/cnr2.1160

Chauvin, M., & Sauce, D. (2022). Mechanisms of immune aging in HIV. *Clin Sci (Lond)*, *136*(1), 61-80. https://doi.org/10.1042/CS20210344

Chen, C., Haupert, S. R., Zimmermann, L., Shi, X., Fritsche, L. G., & Mukherjee, B. (2022). Global Prevalence of Post-Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Condition or Long COVID: A Meta-Analysis and Systematic Review. *J Infect Dis*, *226*(9), 1593-1607. https://doi.org/10.1093/infdis/jiac136

Chirshev, E., Oberg, K. C., Ioffe, Y. J., & Unternaehrer, J. J. (2019). Let-7 as biomarker, prognostic indicator, and therapy for precision medicine in cancer. *Clin Transl Med*, *8*(1), 24. https://doi.org/10.1186/s40169-019-0240-y

Chocarro, L., Blanco, E., Zuazo, M., Arasanz, H., Bocanegra, A., Fernández-Rubio, L., . . . Escors, D. (2021). Understanding LAG-3 Signaling. *Int J Mol Sci*, *22*(10). https://doi.org/10.3390/ijms22105282

Choi, H. S., Kim, I. J., Kim, C. S., Ma, S. K., Scholey, J. W., Kim, S. W., & Bae, E. H. (2020). Angiotensin-[1-7] attenuates kidney injury in experimental Alport syndrome. *Sci Rep*, *10*(1), 4225. https://doi.org/10.1038/s41598-020-61250-5

Chow, A., Perica, K., Klebanoff, C. A., & Wolchok, J. D. (2022). Clinical implications of T cell exhaustion for cancer immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol*, *19*(12), 775-790. https://doi.org/10.1038/s41571-022-00689-z

Cihlar, T., & Fordyce, M. (2016). Current status and prospects of HIV treatment. *Curr Opin Virol*, *18*, 50-56. https://doi.org/10.1016/j.coviro.2016.03.004

Consortium, U. (2023). UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023. *Nucleic Acids Res*, *51*(D1), D523-D531. https://doi.org/10.1093/nar/gkac1052

Coppé, J. P., Desprez, P. Y., Krtolica, A., & Campisi, J. (2010). The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Annu Rev Pathol*, *5*, 99-118. https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-121808-102144

Copur, S., Berkkan, M., Basile, C., Tuttle, K., & Kanbay, M. (2022). Post-acute COVID-19 syndrome and kidney diseases: what do we know? *J Nephrol*, *35*(3), 795-805. https://doi.org/10.1007/s40620-022-01296-y

Corporation, L. (2023). *In xMAP Technology*.Recuperado el 20 de octubre de 2023 de http://www.luminexcorp.com

Costa, M. C., Leitão, A. L., & Enguita, F. J. (2014). MicroRNA profiling in plasma or serum using quantitative RT-PCR. *Methods Mol Biol*, *1182*, 121-129. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1062-5_11

Crespo-Bermejo, C., de Arellano, E. R., Lara-Aguilar, V., Valle-Millares, D., Gómez-Lus, M. L., Madrid, R., . . . Briz, V. (2021). Persistent low-Level viremia in persons living with HIV undertreatment: An unresolved status. *Virulence*, *12*(1), 2919-2931. https://doi.org/10.1080/21505594.2021.2004743

Croft, M., So, T., Duan, W., & Soroosh, P. (2009). The significance of OX40 and OX40L to T-cell biology and immune disease. *Immunol Rev*, *229*(1), 173-191. https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2009.00766.x

Croxford, S., Kitching, A., Desai, S., Kall, M., Edelstein, M., Skingsley, A., . . . Delpech, V. (2017). Mortality and causes of death in people diagnosed with HIV in the era of highly active antiretroviral therapy compared with the general population: an analysis of a national observational cohort. *Lancet Public Health*, *2*(1), e35-e46. https://doi.org/10.1016/S2468-2667(16)30020-2

Cuollo, L., Antonangeli, F., Santoni, A., & Soriani, A. (2020). The Senescence-Associated Secretory Phenotype (SASP) in the Challenging Future of Cancer Therapy and Age-Related Diseases. *Biology (Basel)*, *9*(12). https://doi.org/10.3390/biology9120485

Dalgleish, A. G., & O'Byrne, K. J. (2002). Chronic immune activation and inflammation in the pathogenesis of AIDS and cancer. *Adv Cancer Res*, *84*, 231-276. https://doi.org/10.1016/s0065-230x(02)84008-8

Das, M., Zhu, C., & Kuchroo, V. K. (2017). Tim-3 and its role in regulating anti-tumor immunity. *Immunol Rev*, *276*(1), 97-111. https://doi.org/10.1111/imr.12520

de Gaetano Donati, K., Cauda, R., & Iacoviello, L. (2010). HIV Infection, Antiretroviral Therapy and Cardiovascular Risk. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, *2*(3), e2010034. https://doi.org/10.4084/MJHID.2010.034

De Pablo-Bernal, R. S., Ramos, R., Genebat, M., Cañizares, J., Rafii-El-Idrissi Benhnia, M., Muñoz-Fernández, M. A., . . . Ruiz-Mateos, E. (2016). Phenotype and Polyfunctional Deregulation Involving Interleukin 6 (IL-6)- and IL-10-Producing Monocytes in HIV-Infected Patients Receiving Combination Antiretroviral Therapy Differ From Those in Healthy Older Individuals. *J Infect Dis*, *213*(6), 999-1007. https://doi.org/10.1093/infdis/jiv520

Deeks, S. G., & Phillips, A. N. (2009). HIV infection, antiretroviral treatment, ageing, and non-AIDS related morbidity. *BMJ*, *338*, a3172. https://doi.org/10.1136/bmj.a3172

Del Ry, S., Cabiati, M., & Clerico, A. (2014). Natriuretic peptide system and the heart. *Front Horm Res*, *43*, 134-143. https://doi.org/10.1159/000360597

Delgado, R. (2011). [Virological characteristics of HIV]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, *29*(1), 58-65. https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.10.001

Dennis, A., Wamil, M., Alberts, J., Oben, J., Cuthbertson, D. J., Wootton, D., . . . investigators, C. s. (2021). Multiorgan impairment in low-risk individuals with post-COVID-19 syndrome: a prospective, community-based study. *BMJ Open*, *11*(3), e048391. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-048391

Desai, S., Usuga, X., & Martinson, J. (2009). Immune senescence, activation and abnormal T cell homeostasis despite effective HAART, a hallmark of early aging in HIV. 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections,

Di Biagio, A., Del Bono, V., Rosso, R., & Viscoli, C. (2012). HIV and accelerated atheroprogression: role of antiretroviral therapy. *Curr Pharm Biotechnol*, *13*(1), 88-96. https://doi.org/10.2174/138920112798868520

Dickinson, J. D., Alevy, Y., Malvin, N. P., Patel, K. K., Gunsten, S. P., Holtzman, M. J., . . . Brody, S. L. (2016). IL13 activates autophagy to regulate secretion in airway epithelial cells. *Autophagy*, *12*(2), 397-409. https://doi.org/10.1080/15548627.2015.1056967

Doherty, T. A., Soroosh, P., Khorram, N., Fukuyama, S., Rosenthal, P., Cho, J. Y., . . . Croft, M. (2011). The tumor necrosis factor family member LIGHT is a target for asthmatic airway remodeling. *Nat Med*, *17*(5), 596-603. https://doi.org/10.1038/nm.2356

Dong, M. P., Enomoto, M., Thuy, L. T. T., Hai, H., Hieu, V. N., Hoang, D. V., . . . Kawada, N. (2020). Clinical significance of circulating soluble immune checkpoint proteins in sorafenib-treated patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Sci Rep*, *10*(1), 3392. https://doi.org/10.1038/s41598-020-60440-5

Dunn, P. K. (2018). Chapter 8: generalized linear models: Diagnostics. *Generalized Linear Models With Examples in R*(Springer), 297-331.

Duque-Ossa, L. C., García-Ferrera, B., & Reyes-Retana, J. A. (2023). Troponin I as a Biomarker for Early Detection of Acute Myocardial Infarction. *Curr Probl Cardiol*, *48*(5), 101067. https://doi.org/10.1016/j.cpcardiol.2021.101067

European AIDS Clinical Society (EACS). (2022). *Guidelines v.11*. Recuperado el 15 de Noviembre 2023 de https://www.eacsociety.org/media/guidelines-11.1_final_09-10.pdf

Eggena, M. P., Barugahare, B., Jones, N., Okello, M., Mutalya, S., Kityo, C., . . . Cao, H. (2005). Depletion of regulatory T cells in HIV infection is associated with immune activation. *J Immunol*, *174*(7), 4407-4414. https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.7.4407

Elshafei, A., Khidr, E. G., El-Husseiny, A. A., & Gomaa, M. H. (2021). RAAS, ACE2 and COVID-19; a mechanistic review. *Saudi J Biol Sci*, *28*(11), 6465-6470. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.003

European Medicines Agency (EMA). (s.f.). *COVID-19 medicines*. Recuperado el 19 de Marzo de 2024 de https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory-overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/covid-19-medicines#authorised-covid-19-vaccines-section

Ershler, W. B. (2003). Biological interactions of aging and anemia: a focus on cytokines. *J Am Geriatr Soc*, *51*(3 Suppl), S18-21. https://doi.org/10.1046/j.1532-5415.51.3s.2.x

Eyileten, C., Wicik, Z., Simões, S. N., Martins-Jr, D. C., Klos, K., Wlodarczyk, W., . . . Postula, M. (2022). Thrombosis-related circulating miR-16-5p is associated with disease severity in patients hospitalised for COVID-19. *RNA Biol*, *19*(1), 963-979. https://doi.org/10.1080/15476286.2022.2100629

Fajgenbaum, D. C., & June, C. H. (2020). Cytokine Storm. *N Engl J Med*, *383*(23), 2255-2273. https://doi.org/10.1056/NEJMra2026131

Feinstein, M. J., Hsue, P. Y., Benjamin, L. A., Bloomfield, G. S., Currier, J. S., Freiberg, M. S., . . . Post, W. S. (2019). Characteristics, Prevention, and Management of Cardiovascular Disease in People Living With HIV: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*, *140*(2), e98-e124. https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000695

Fenwick, C., Joo, V., Jacquier, P., Noto, A., Banga, R., Perreau, M., & Pantaleo, G. (2019). T-cell exhaustion in HIV infection. *Immunol Rev*, *292*(1), 149-163. https://doi.org/10.1111/imr.12823

Finney, H., Newman, D. J., & Price, C. P. (2000). Adult reference ranges for serum cystatin C, creatinine and predicted creatinine clearance. *Ann Clin Biochem*, *37 (Pt 1)*, 49-59. https://doi.org/10.1258/0004563001901524

Frankel, A. D., & Young, J. A. (1998). HIV-1: fifteen proteins and an RNA. *Annu Rev Biochem*, *67*, 1-25. https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.67.1.1

Freeman, M. L., Shive, C. L., Nguyen, T. P., Younes, S. A., Panigrahi, S., & Lederman, M. M. (2016). Cytokines and T-Cell Homeostasis in HIV Infection. *J Infect Dis*, *214 Suppl 2*(Suppl 2), S51-57. https://doi.org/10.1093/infdis/jiw287

Frega, S., Ferro, A., Bonanno, L., Guarneri, V., Conte, P., & Pasello, G. (2020). Lung Cancer (LC) in HIV Positive Patients: Pathogenic Features and Implications for Treatment. *Int J Mol Sci*, *21*(5). https://doi.org/10.3390/ijms21051601

Freund, A., Orjalo, A. V., Desprez, P. Y., & Campisi, J. (2010). Inflammatory networks during cellular senescence: causes and consequences. *Trends Mol Med*, *16*(5), 238-246. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2010.03.003

Funes, S. C., Manrique de Lara, A., Altamirano-Lagos, M. J., Mackern-Oberti, J. P., Escobar-Vera, J., & Kalergis, A. M. (2019). Immune checkpoints and the regulation of tolerogenicity in dendritic cells: Implications for autoimmunity and immunotherapy. *Autoimmun Rev*, *18*(4), 359-368. https://doi.org/10.1016/j.autrev.2019.02.006

Fuse, M., Kojima, S., Enokida, H., Chiyomaru, T., Yoshino, H., Nohata, N., . . . Seki, N. (2012). Tumor suppressive microRNAs (miR-222 and miR-31) regulate molecular pathways based on microRNA expression signature in prostate cancer. *J Hum Genet*, *57*(11), 691-699. https://doi.org/10.1038/jhg.2012.95

Gaikwad, S., Agrawal, M. Y., Kaushik, I., Ramachandran, S., & Srivastava, S. K. (2022). Immune checkpoint proteins: Signaling mechanisms and molecular interactions in cancer immunotherapy. *Semin Cancer Biol*, *86*(Pt 3), 137-150. https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2022.03.014

Gallo, R. C., Sliski, A., & Wong-Staal, F. (1983). Origin of human T-cell leukaemia-lymphoma virus. *Lancet*, *2*(8356), 962-963. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(83)90471-3

Gameil, M. A., Marzouk, R. E., Elsebaie, A. H., & Rozaik, S. E. (2021). Long-term clinical and biochemical residue after COVID-19 recovery. *Egypt Liver J*, *11*(1), 74. https://doi.org/10.1186/s43066-021-00144-1

Gao, X., Zhang, S., Gou, J., Wen, Y., Fan, L., Zhou, J., . . . Zhang, Z. (2022). Spike-mediated ACE2 down-regulation was involved in the pathogenesis of SARS-CoV-2 infection. *J Infect*, *85*(4), 418-427. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2022.06.030

Gao, Y., Yan, L., Huang, Y., Liu, F., Zhao, Y., Cao, L., . . . Rao, Z. (2020). Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. *Science*, *368*(6492), 779-782. https://doi.org/10.1126/science.abb7498

Gardner, S. E., Humphry, M., Bennett, M. R., & Clarke, M. C. (2015). Senescent Vascular Smooth Muscle Cells Drive Inflammation Through an Interleukin-1α-Dependent

Senescence-Associated Secretory Phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, *35*(9), 1963-1974. https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.115.305896

Garrido-Cano, I., Constâncio, V., Adam-Artigues, A., Lameirinhas, A., Simón, S., Ortega, B., . . . Eroles, P. (2020). Circulating miR-99a-5p Expression in Plasma: A Potential Biomarker for Early Diagnosis of Breast Cancer. *Int J Mol Sci*, *21*(19). https://doi.org/10.3390/ijms21197427

Gasek, N. S., Kuchel, G. A., Kirkland, J. L., & Xu, M. (2021). Strategies for Targeting Senescent Cells in Human Disease. *Nat Aging*, *1*(10), 870-879. https://doi.org/10.1038/s43587-021-00121-8

Gebhardt, C., Németh, J., Angel, P., & Hess, J. (2006). S100A8 and S100A9 in inflammation and cancer. *Biochem Pharmacol*, *72*(11), 1622-1631. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.05.017

Giannella, A., Riccetti, S., Sinigaglia, A., Piubelli, C., Razzaboni, E., Di Battista, P., . . . Barzon, L. (2022). Circulating microRNA signatures associated with disease severity and outcome in COVID-19 patients. *Front Immunol*, *13*, 968991. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.968991

Gobierno de España (GOB). (s.f.). *Estrategia de vacunación COVID-19*. Recuperado el 19 de marzo de 2024 de https://www.vacunacovid.gob.es/

Golia, E., Limongelli, G., Natale, F., Fimiani, F., Maddaloni, V., Pariggiano, I., . . . Calabrò, P. (2014). Inflammation and cardiovascular disease: from pathogenesis to therapeutic target. *Curr Atheroscler Rep*, *16*(9), 435. https://doi.org/10.1007/s11883-014-0435-z

Gorgoulis, V., Adams, P. D., Alimonti, A., Bennett, D. C., Bischof, O., Bishop, C., . . . Demaria, M. (2019). Cellular Senescence: Defining a Path Forward. *Cell*, *179*(4), 813-827. https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.10.005

Grade, J., Hernández Robledo, E., Valdés, A., Mera-Cordero, F., Rod, D., & Morera, L. (2022). The Prion hypothesis about Long Covid and SARS-CoV-2 *[Preprint]. Disponible en:https://www.researchgate.net/publication/366355790_The_Prion_hypothesis_about_Long_Covid_and_SARS-CoV-2*.

Green, D. (2006). Coagulation cascade. *Hemodial Int*, *10 Suppl 2*, S2-4. https://doi.org/10.1111/j.1542-4758.2006.00119.x

Greene, W. C. (1991). The molecular biology of human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med*, *324*(5), 308-317. https://doi.org/10.1056/NEJM199101313240506

Gu, D., Ao, X., Yang, Y., Chen, Z., & Xu, X. (2018). Soluble immune checkpoints in cancer: production, function and biological significance. *J Immunother Cancer*, *6*(1), 132. https://doi.org/10.1186/s40425-018-0449-0

Gualandro, D. M., Twerenbold, R., Boeddinghaus, J., Nestelberger, T., Puelacher, C., & Müller, C. (2019). Biomarkers in cardiovascular medicine: towards precision medicine. *Swiss Med Wkly*, *149*, w20125. https://doi.org/10.4414/smw.2019.20125

Guaraldi, G., Orlando, G., Zona, S., Menozzi, M., Carli, F., Garlassi, E., . . . Palella, F. (2011). Premature age-related comorbidities among HIV-infected persons compared with the general population. *Clin Infect Dis*, *53*(11), 1120-1126. https://doi.org/10.1093/cid/cir627

Gubernatorova, E. O., Polinova, A. I., Petropavlovskiy, M. M., Namakanova, O. A., Medvedovskaya, A. D., Zvartsev, R. V., . . . Nedospasov, S. A. (2021). Dual Role of TNF and LTα in Carcinogenesis as Implicated by Studies in Mice. *Cancers (Basel)*, *13*(8). https://doi.org/10.3390/cancers13081775

Gui, J., Tian, Y., Wen, X., Zhang, W., Zhang, P., Gao, J., . . . Gao, Y. (2011). Serum microRNA characterization identifies miR-885-5p as a potential marker for detecting liver pathologies. *Clin Sci (Lond)*, *120*(5), 183-193. https://doi.org/10.1042/CS20100297

Gutierrez-Franco, J., Hernandez-Gutierrez, R., Bueno-Topete, M. R., Haramati, J., Navarro-Hernandez, R. E., Escarra-Senmarti, M., . . . Del Toro-Arreola, S. (2018). Characterization of B7H6, an endogenous ligand for the NK cell activating receptor NKp30, reveals the identity of two different soluble isoforms during normal human pregnancy. *Immunobiology*, *223*(1), 57-63. https://doi.org/10.1016/j.imbio.2017.10.012

Gómez-Carballa, A., Martinón-Torres, F., & Salas, A. (2022). Is SARS-CoV-2 an oncogenic virus? *J Infect*, *85*(5), 573-607. https://doi.org/10.1016/j.jinf.2022.08.005

Halaby, R., Popma, C. J., Cohen, A., Chi, G., Zacarkim, M. R., Romero, G., . . . Gibson, C. M. (2015). D-Dimer elevation and adverse outcomes. *J Thromb Thrombolysis*, *39*(1), 55-59. https://doi.org/10.1007/s11239-014-1101-6

Harvey, E. J., & Ramji, D. P. (2005). Interferon-gamma and atherosclerosis: pro- or anti-atherogenic? *Cardiovasc Res*, *67*(1), 11-20. https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.04.019

Hashimoto, M., Kamphorst, A. O., Im, S. J., Kissick, H. T., Pillai, R. N., Ramalingam, S. S., . . . Ahmed, R. (2018). CD8 T Cell Exhaustion in Chronic Infection and Cancer: Opportunities for Interventions. *Annu Rev Med*, *69*, 301-318. https://doi.org/10.1146/annurev-med-012017-043208

Hemkens, L. G., & Bucher, H. C. (2014). HIV infection and cardiovascular disease. *Eur Heart J*, *35*(21), 1373-1381. https://doi.org/10.1093/eurheartj/eht528

Heo, S. K., Ju, S. A., Kim, G. Y., Park, S. M., Back, S. H., Park, N. H., . . . Kim, B. S. (2012). The presence of high level soluble herpes virus entry mediator in sera of gastric cancer patients. *Exp Mol Med*, *44*(2), 149-158. https://doi.org/10.3858/emm.2012.44.2.010

U.S. Department of Health and Human Services (HHS) (2023). *What Are the Possible Treatment Options for COVID-19?* Recuperado el 15 de octubre de 2023 de https://aspr.hhs.gov/COVID-19/Treatments/Pages/Possible-Treatment-Options-for-COVID19.aspx

Hileman, C. O., & Funderburg, N. T. (2017). Inflammation, Immune Activation, and Antiretroviral Therapy in HIV. *Curr HIV/AIDS Rep*, *14*(3), 93-100. https://doi.org/10.1007/s11904-017-0356-x

Hintzen, R. Q., Lens, S. M., Koopman, G., Pals, S. T., Spits, H., & van Lier, R. A. (1994). CD70 represents the human ligand for CD27. *Int Immunol*, *6*(3), 477-480. https://doi.org/10.1093/intimm/6.3.477

Hoss, A. G., Labadorf, A., Latourelle, J. C., Kartha, V. K., Hadzi, T. C., Gusella, J. F., . . . Myers, R. H. (2015). miR-10b-5p expression in Huntington's disease brain relates to age of onset and the extent of striatal involvement. *BMC Med Genomics*, *8*, 10. https://doi.org/10.1186/s12920-015-0083-3

Hou, H., Zhang, Y., Tang, G., Luo, Y., Liu, W., Cheng, C., . . . Wang, F. (2021). Immunologic memory to SARS-CoV-2 in convalescent COVID-19 patients at 1 year postinfection. *J Allergy Clin Immunol*, *148*(6), 1481-1492.e1482. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2021.09.008

Huang, C., Zhu, H. X., Yao, Y., Bian, Z. H., Zheng, Y. J., Li, L., . . . Lian, Z. X. (2019). Immune checkpoint molecules. Possible future therapeutic implications in autoimmune diseases. *J Autoimmun*, *104*, 102333. https://doi.org/10.1016/j.jaut.2019.102333

INC. (2022). *Inhibidores de puntos de control inmunitario*. https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/inmunoterapia/inhibidores-de-puntos-de-control

Jafarzadeh, A., Gosain, R., Mortazavi, S. M. J., Nemati, M., Jafarzadeh, S., & Ghaderi, A. (2022). SARS-CoV-2 Infection: A Possible Risk Factor for Incidence and Recurrence of Cancers. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, *16*(2), 117-127. https://doi.org/10.18502/ijhoscr.v16i2.9205

Jahankhani, K., Ahangari, F., Adcock, I. M., & Mortaz, E. (2023). Possible cancer-causing capacity of COVID-19: Is SARS-CoV-2 an oncogenic agent? *Biochimie*, *213*, 130-138. https://doi.org/10.1016/j.biochi.2023.05.014

Jewell, B. L., Mudimu, E., Stover, J., Ten Brink, D., Phillips, A. N., Smith, J. A., . . . Consortium, H. M. (2020). Potential effects of disruption to HIV programmes in sub-Saharan Africa caused by COVID-19: results from multiple mathematical models. *Lancet HIV*, *7*(9), e629-e640. https://doi.org/10.1016/S2352-3018(20)30211-3

Jiang, Y., Rubin, L., Peng, T., Liu, L., Xing, X., Lazarovici, P., & Zheng, W. (2022). Cytokine storm in COVID-19: from viral infection to immune responses, diagnosis and therapy. *Int J Biol Sci*, *18*(2), 459-472. https://doi.org/10.7150/ijbs.59272

Jin, H. J., Lee, H. J., Heo, J., Lim, J., Kim, M., Kim, M. K., . . . Kim, S. W. (2016). Senescence-Associated MCP-1 Secretion Is Dependent on a Decline in BMI1 in Human Mesenchymal Stromal Cells. *Antioxid Redox Signal*, *24*(9), 471-485. https://doi.org/10.1089/ars.2015.6359

Johnson, C. D., Esquela-Kerscher, A., Stefani, G., Byrom, M., Kelnar, K., Ovcharenko, D., . . . Slack, F. J. (2007). The let-7 microRNA represses cell proliferation pathways in human cells. *Cancer Res*, *67*(16), 7713-7722. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-1083

Jones, T. C., Biele, G., Mühlemann, B., Veith, T., Schneider, J., Beheim-Schwarzbach, J., . . . Drosten, C. (2021). Estimating infectiousness throughout SARS-CoV-2 infection course. *Science*, *373*(6551). https://doi.org/10.1126/science.abi5273

K, H., & PG., G. (2023). *HIV Prevention.* StatPearls Publishing.

Kalaivani, M. K., & Dinakar, S. (2022). Association between D-dimer levels and post-acute sequelae of SARS-CoV-2 in patients from a tertiary care center. *Biomark Med*, *16*(11), 833-838. https://doi.org/10.2217/bmm-2022-0050

Kanehisa, M., Furumichi, M., Sato, Y., Ishiguro-Watanabe, M., & Tanabe, M. (2021). KEGG: integrating viruses and cellular organisms. *Nucleic Acids Res*, *49*(D1), D545-D551. https://doi.org/10.1093/nar/gkaa970

Kelesidis, T., & Currier, J. S. (2014). Dyslipidemia and cardiovascular risk in human immunodeficiency virus infection. *Endocrinol Metab Clin North Am*, *43*(3), 665-684. https://doi.org/10.1016/j.ecl.2014.06.003

Khan, M., Zhao, Z., Arooj, S., Fu, Y., & Liao, G. (2020). Soluble PD-1: Predictive, Prognostic, and Therapeutic Value for Cancer Immunotherapy. *Front Immunol*, *11*, 587460. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.587460

Kircheis, R., Haasbach, E., Lueftenegger, D., Heyken, W. T., Ocker, M., & Planz, O. (2020). NF-κB Pathway as a Potential Target for Treatment of Critical Stage COVID-19 Patients. *Front Immunol*, *11*, 598444. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.598444

Kolossváry, M., deFilippi, C., McCallum, S., Fitch, K. V., Diggs, M. R., Fulda, E. S., . . . Grinspoon, S. K. (2023). Identification of pre-infection markers and differential plasma protein expression following SARS-CoV-2 infection in people living with HIV. *EBioMedicine*, *90*, 104538. https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104538

Krishnan, P., Ghosh, S., Wang, B., Li, D., Narasimhan, A., Berendt, R., . . . Damaraju, S. (2015). Next generation sequencing profiling identifies miR-574-3p and miR-660-5p as potential novel prognostic markers for breast cancer. *BMC Genomics*, *16*, 735. https://doi.org/10.1186/s12864-015-1899-0

Kuba, K., Imai, Y., Rao, S., Gao, H., Guo, F., Guan, B., . . . Penninger, J. M. (2005). A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat Med*, *11*(8), 875-879. https://doi.org/10.1038/nm1267

Kuppa, A., Tripathi, H., Al-Darraji, A., Tarhuni, W. M., & Abdel-Latif, A. (2023). C-Reactive Protein Levels and Risk of Cardiovascular Diseases: A Two-Sample Bidirectional Mendelian Randomization Study. *Int J Mol Sci*, *24*(11). https://doi.org/10.3390/ijms24119129

Lagrange, J., & Wenzel, P. (2019). The regulatory role of coagulation factors in vascular function. *Front Biosci (Landmark Ed)*, *24*(3), 494-513. https://doi.org/10.2741/4731

Lai, C. C., Shih, T. P., Ko, W. C., Tang, H. J., & Hsueh, P. R. (2020). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *Int J Antimicrob Agents*, *55*(3), 105924. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924

Latchman, Y., Wood, C. R., Chernova, T., Chaudhary, D., Borde, M., Chernova, I., . . . Freeman, G. J. (2001). PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol*, *2*(3), 261-268. https://doi.org/10.1038/85330

Leccese, D., Cornacchini, S., Nacmias, B., Sorbi, S., & Bessi, V. (2023). Creutzfeldt-Jakob Disease in a Patient with Previous COVID-19 Infection: "The Virus Caused the Derangement in My Brain". *J Alzheimers Dis Rep*, *7*(1), 129-134. https://doi.org/10.3233/ADR-220095

Lee, J. Y., Dhakal, I., Casper, C., Noy, A., Palefsky, J. M., Haigentz, M., . . . Mitsuyasu, R. T. (2016). Risk of Cancer among Commercially Insured HIV-Infected Adults on Antiretroviral Therapy. *J Cancer Epidemiol*, *2016*, 2138259. https://doi.org/10.1155/2016/2138259

Lee, S., & Schmitt, C. A. (2019). The dynamic nature of senescence in cancer. *Nat Cell Biol*, *21*(1), 94-101. https://doi.org/10.1038/s41556-018-0249-2

Lee, S., Yu, Y., Trimpert, J., Benthani, F., Mairhofer, M., Richter-Pechanska, P., . . . Schmitt, C. A. (2021). Virus-induced senescence is a driver and therapeutic target in COVID-19. *Nature*, *599*(7884), 283-289. https://doi.org/10.1038/s41586-021-03995-1

Lehmann, A., Prosch, H., Zehetmayer, S., Gysan, M. R., Bernitzky, D., Vonbank, K., . . . Gompelmann, D. (2021). Impact of persistent D-dimer elevation following recovery from COVID-19. *PLoS One*, *16*(10), e0258351. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258351

Li, Q., Liu, X., & Wei, J. (2014). Ageing related periostin expression increase from cardiac fibroblasts promotes cardiomyocytes senescent. *Biochem Biophys Res Commun*, *452*(3), 497-502. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.08.109

Li, W., Syed, F., Yu, R., Yang, J., Xia, Y., Relich, R. F., . . . Yu, Q. (2022). Soluble Immune Checkpoints Are Dysregulated in COVID-19 and Heavy Alcohol Users With HIV Infection. *Front Immunol*, *13*, 833310. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.833310

Li, X., Geng, M., Peng, Y., Meng, L., & Lu, S. (2020). Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J Pharm Anal*, *10*(2), 102-108. https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.001

Li, Y. S., Ren, H. C., & Cao, J. H. (2022). Correlation of SARS-CoV-2 to cancer: Carcinogenic or anticancer? (Review). *Int J Oncol*, *60*(4). https://doi.org/10.3892/ijo.2022.5332

Lin, S., & Gregory, R. I. (2015). MicroRNA biogenesis pathways in cancer. *Nat Rev Cancer*, *15*(6), 321-333. https://doi.org/10.1038/nrc3932

Liu, B., Jayasundara, D., Pye, V., Dobbins, T., Dore, G. J., Matthews, G., . . . Spokes, P. (2021). Whole of population-based cohort study of recovery time from COVID-19 in New South Wales Australia. *Lancet Reg Health West Pac*, *12*, 100193. https://doi.org/10.1016/j.lanwpc.2021.100193

Liu, S., Liang, J., Liu, Z., Zhang, C., Wang, Y., Watson, A. H., . . . Wang, X. (2021). The Role of CD276 in Cancers. *Front Oncol*, *11*, 654684. https://doi.org/10.3389/fonc.2021.654684

Loretelli, C., Abdelsalam, A., D'Addio, F., Ben Nasr, M., Assi, E., Usuelli, V., . . . Fiorina, P. (2021). PD-1 blockade counteracts post-COVID-19 immune abnormalities and stimulates the anti-SARS-CoV-2 immune response. *JCI Insight*, *6*(24). https://doi.org/10.1172/jci.insight.146701

Lu, T. X., & Rothenberg, M. E. (2018). MicroRNA. *J Allergy Clin Immunol*, *141*(4), 1202-1207. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.08.034

Lundgren, J. D., Babiker, A. G., Gordin, F., Emery, S., Grund, B., Sharma, S., . . . Group, I. S. S. (2015). Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. *N Engl J Med*, *373*(9), 795-807. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1506816

Lv, L., Wang, X., Shen, J., Cao, Y., & Zhang, Q. (2022). MiR-574-3p inhibits glucose toxicity-induced pancreatic β-cell dysfunction by suppressing PRMT1. *Diabetol Metab Syndr*, *14*(1), 99. https://doi.org/10.1186/s13098-022-00869-y

Lynch, S. M., Guo, G., Gibson, D. S., Bjourson, A. J., & Rai, T. S. (2021). Role of Senescence and Aging in SARS-CoV-2 Infection and COVID-19 Disease. *Cells*, *10*(12). https://doi.org/10.3390/cells10123367

Martin-Iguacel, R. (2023). *Risk of major cardiovascular events after COVID-19 in people with HIV: the prospective PISCIS cohort study* The 19th European AIDS Conference (EACS), Warsaw, Poland.

Martin-Iguacel, R., Llibre, J. M., & Friis-Moller, N. (2015). Risk of Cardiovascular Disease in an Aging HIV Population: Where Are We Now? *Curr HIV/AIDS Rep*, *12*(4), 375-387. https://doi.org/10.1007/s11904-015-0284-6

Martín-Iguacel, R., Moreno-Fornés, S., Bruguera, A., Aceitón, J., Nomah, D. K., González-Cordón, A., . . . group, P. s. (2024). Major cardiovascular events after COVID-19 in people with HIV. *Clin Microbiol Infect*. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2024.02.006

Martín-Ventura, J. L., Blanco-Colio, L. M., Tuñón, J., Muñoz-García, B., Madrigal-Matute, J., Moreno, J. A., . . . Egido, J. (2009). Biomarkers in cardiovascular medicine. *Rev Esp Cardiol*, *62*(6), 677-688. https://doi.org/10.1016/s1885-5857(09)72232-7

Marzoog, B. A. (2022). Coagulopathy and Brain Injury Pathogenesis in Post-Covid-19 Syndrome. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, *20*(3), 178-188. https://doi.org/10.2174/1871525720666220405124021

Mathieu, E., Ritchie, H., Rodés-Guirao, L., Cameron, A., Giattino, C., Hasell, J., . . . Roser, M. (2020). *Coronavirus Pandemic (COVID-19)*. Recuperado el 21 de marzo de https://ourworldindata.org/coronavirus

Matlung, H. L., Szilagyi, K., Barclay, N. A., & van den Berg, T. K. (2017). The CD47-SIRPα signaling axis as an innate immune checkpoint in cancer. *Immunol Rev*, *276*(1), 145-164. https://doi.org/10.1111/imr.12527

Mazzitelli, M., Trunfio, M., Sasset, L., Leoni, D., Castelli, E., Lo Menzo, S., . . . Cattelan, A. M. (2022). Factors Associated with Severe COVID-19 and Post-Acute COVID-19

Syndrome in a Cohort of People Living with HIV on Antiretroviral Treatment and with Undetectable HIV RNA. *Viruses*, *14*(3). https://doi.org/10.3390/v14030493

Mc Lean, R., Forsythe, S., Semini, I., & Whiteside, A. (2021). - The consequences of COVID-19 and its impact on the HIV/AIDS response. *Afr J AIDS Res*, *20*(4), 255-258. https://doi.org/10.2989/16085906.2021.2015667

Meijide, H., Pértega, S., Rodríguez-Osorio, I., Castro-Iglesias, Á., Baliñas, J., Rodríguez-Martínez, G., . . . Poveda, E. (2017). Increased incidence of cancer observed in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients versus HIV-monoinfected. *AIDS*, *31*(8), 1099-1107. https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001448

Menk, A. V., Scharping, N. E., Rivadeneira, D. B., Calderon, M. J., Watson, M. J., Dunstane, D., . . . Delgoffe, G. M. (2018). 4-1BB costimulation induces T cell mitochondrial function and biogenesis enabling cancer immunotherapeutic responses. *J Exp Med*, *215*(4), 1091-1100. https://doi.org/10.1084/jem.20171068

Meyer, N. J., Gattinoni, L., & Calfee, C. S. (2021). Acute respiratory distress syndrome. *Lancet*, *398*(10300), 622-637. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00439-6

Mocroft, A., Phillips, A. N., Gatell, J., Ledergerber, B., Fisher, M., Clumeck, N., . . . group, E. s. (2007). Normalisation of CD4 counts in patients with HIV-1 infection and maximum virological suppression who are taking combination antiretroviral therapy: an observational cohort study. *Lancet*, *370*(9585), 407-413. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60948-9

Mousavizadeh, L., & Ghasemi, S. (2021). Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *J Microbiol Immunol Infect*, *54*(2), 159-163. https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.022

Mullender, C., da Costa, K. A. S., Alrubayyi, A., Pett, S. L., & Peppa, D. (2022). SARS-CoV-2 immunity and vaccine strategies in people with HIV. *Oxf Open Immunol*, *3*(1), iqac005. https://doi.org/10.1093/oxfimm/iqac005

Naqvi, A. A. T., Fatima, K., Mohammad, T., Fatima, U., Singh, I. K., Singh, A., . . . Hassan, M. I. (2020). Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, *1866*(10), 165878. https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165878

Nash, M., McGrath, J. P., Cartland, S. P., Patel, S., & Kavurma, M. M. (2019). Tumour necrosis factor superfamily members in ischaemic vascular diseases. *Cardiovasc Res*, *115*(4), 713-720. https://doi.org/10.1093/cvr/cvz042

Nasi, M., Pinti, M., Mussini, C., & Cossarizza, A. (2014). Persistent inflammation in HIV infection: established concepts, new perspectives. *Immunol Lett*, *161*(2), 184-188. https://doi.org/10.1016/j.imlet.2014.01.008

Niu, J., & Kolattukudy, P. E. (2009). Role of MCP-1 in cardiovascular disease: molecular mechanisms and clinical implications. *Clin Sci (Lond)*, *117*(3), 95-109. https://doi.org/10.1042/CS20080581

Nomah, D. K., Llibre, J. M., Díaz, Y., Moreno, S., Aceiton, J., Bruguera, A., . . . The Piscis Study Group. (2022). SARS-CoV-2 Vaccination Coverage and Factors Associated with Low Uptake in a Cohort of People Living with HIV. *Microorganisms*, *10*(8). https://doi.org/10.3390/microorganisms10081666

Notarte, K. I., de Oliveira, M. H. S., Peligro, P. J., Velasco, J. V., Macaranas, I., Ver, A. T., . . . Fernández-de-Las-Peñas, C. (2022). Age, Sex and Previous Comorbidities as Risk Factors Not Associated with SARS-CoV-2 Infection for Long COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Med*, *11*(24). https://doi.org/10.3390/jcm11247314

O'Brien, J., Hayder, H., Zayed, Y., & Peng, C. (2018). Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Front Endocrinol (Lausanne)*, *9*, 402. https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402

Ogarek, N., Oboza, P., Olszanecka-Glinianowicz, M., & Kocelak, P. (2023). SARS-CoV-2 infection as a potential risk factor for the development of cancer. *Front Mol Biosci*, *10*, 1260776. https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1260776

Olink. (2023). *In Proximity Extension Assay (PEA) technology.* Recuperado el 30 de diciembre de https://olink.com/our-platform/our-pea-technology/

Opsteen, S., Files, J. K., Fram, T., & Erdmann, N. (2023). The role of immune activation and antigen persistence in acute and long COVID. *J Investig Med*, *71*(5), 545-562. https://doi.org/10.1177/10815589231158041

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2017). *Enfermedades cardiovasculares*. Recuperado el 22 de marzo de 2024 de https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2020). *Transmission of SARS-CoV-2: implications for infection prevention precautions*. Recuperado el 20 de septiembre de 2023 de https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/transmission-of-sars-cov-2-implications-for-infection-prevention-precautions

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2023a). *VIH y sida.* Recuperado el 30 de octubre de 2023 de https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2023b). *WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard.* Recuperado el 3 de noviembre de 2023 de https://covid19.who.int/

Ortega, J. G., Galera, S. P., Gamarro, B. G., & González, J. G. (2022). Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, *13*(Elsevier), 3329-3336.

Osuji, F. N., Onyenekwe, C. C., Ahaneku, J. E., & Ukibe, N. R. (2018). The effects of highly active antiretroviral therapy on the serum levels of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in HIV infected subjects. *J Biomed Sci*, *25*(1), 88. https://doi.org/10.1186/s12929-018-0490-9

Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/Sida (ONUSIDA). (2020). *Global AIDS Update — Seizing the moment — Tackling entrenched inequalities to end epidemics.* Recuperado el 10 de diciembre de 2023 de https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2020_global-aids-report_en.pdf

Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/Sida (ONUSIDA). (2023a). *UNAIDS DATA 2023*. Recuperado el 10 de noviembre de 2023 de https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/data-book-2023_en.pdf

Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/Sida (ONUSIDA). (2023b). *Estadísticas mundiales sobre el VIH*. Recuperado el 12 de noviembre de 2023 de https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_es.pdf

Palella, F. J., Delaney, K. M., Moorman, A. C., Loveless, M. O., Fuhrer, J., Satten, G. A., . . . Holmberg, S. D. (1998). Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med*, *338*(13), 853-860. https://doi.org/10.1056/NEJM199803263381301

Paradiso, B., Limback, C., Su, T., Liao, W., & Mpotsaris, A. (2023). Editorial: An update on neurological disorders post COVID-19 infection. *Front Neurol*, *14*, 1229843. https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1229843

Peluso, M. J., Deveau, T. M., Munter, S. E., Ryder, D., Buck, A., Beck-Engeser, G., . . . Henrich, T. J. (2023). Chronic viral coinfections differentially affect the likelihood of developing long COVID. *J Clin Invest*, *133*(3). https://doi.org/10.1172/JCI163669

Peluso, M. J., Spinelli, M. A., Deveau, T. M., Forman, C. A., Munter, S. E., Mathur, S., . . . Henrich, T. J. (2022). Postacute sequelae and adaptive immune responses in people with HIV recovering from SARS-COV-2 infection. *AIDS*, *36*(12), F7-F16. https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000003338

Perdas, E., Stawski, R., Kaczka, K., & Zubrzycka, M. (2020). Analysis of Let-7 Family miRNA in Plasma as Potential Predictive Biomarkers of Diagnosis for Papillary Thyroid Cancer. *Diagnostics (Basel)*, *10*(3). https://doi.org/10.3390/diagnostics10030130

Perkins, M. V., Joseph, S. B., Dittmer, D. P., & Mackman, N. (2023). Cardiovascular Disease and Thrombosis in HIV Infection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, *43*(2), 175-191. https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.122.318232

Pfeiler, S., Winkels, H., Kelm, M., & Gerdes, N. (2019). IL-1 family cytokines in cardiovascular disease. *Cytokine*, *122*, 154215. https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.11.009

Phetsouphanh, C., Darley, D. R., Wilson, D. B., Howe, A., Munier, C. M. L., Patel, S. K., . . . Matthews, G. V. (2022). Immunological dysfunction persists for 8 months following initial mild-to-moderate SARS-CoV-2 infection. *Nat Immunol*, *23*(2), 210-216. https://doi.org/10.1038/s41590-021-01113-x

Pogribny, I. P. (2018). MicroRNAs as biomarkers for clinical studies. *Exp Biol Med (Maywood)*, *243*(3), 283-290. https://doi.org/10.1177/1535370217731291

Post, W. S. (2011). Predicting and preventing cardiovascular disease in HIV-infected patients. *Top Antivir Med*, *19*(5), 169-173.

Pretorius, E., Vlok, M., Venter, C., Bezuidenhout, J. A., Laubscher, G. J., Steenkamp, J., & Kell, D. B. (2021). Persistent clotting protein pathology in Long COVID/Post-Acute Sequelae of COVID-19 (PASC) is accompanied by increased levels of antiplasmin. *Cardiovasc Diabetol*, *20*(1), 172. https://doi.org/10.1186/s12933-021-01359-7

Puntmann, V. O., Carerj, M. L., Wieters, I., Fahim, M., Arendt, C., Hoffmann, J., . . . Nagel, E. (2020). Outcomes of Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Patients Recently Recovered From Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol*, *5*(11), 1265-1273. https://doi.org/10.1001/jamacardio.2020.3557

Pérez-Torres, I., Guarner-Lans, V., Soria-Castro, E., Manzano-Pech, L., Palacios-Chavarría, A., Valdez-Vázquez, R. R., . . . Soto, M. E. (2021). Alteration in the Lipid Profile and the Desaturases Activity in Patients With Severe Pneumonia by SARS-CoV-2. *Front Physiol*, *12*, 667024. https://doi.org/10.3389/fphys.2021.667024

Qadir, M. I., & Malik, S. A. (2010). HIV fusion inhibitors. *Rev Med Virol*, *20*(1), 23-33. https://doi.org/10.1002/rmv.631

Rabaan, A. A., Al-Ahmed, S. H., Haque, S., Sah, R., Tiwari, R., Malik, Y. S., . . . Rodriguez-Morales, A. J. (2020). SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-COV: A comparative overview. *Infez Med*, *28*(2), 174-184.

Rafat, M., Roshan, A., Abyar, M., Keramati, S., & Nikpoor, A. R. (2021). Bioinformatic evaluation of the miRNAs targeting ACE2 gene in COVID-19. *Disease and Diagnosis*, *10 (4)*, 135-143.

Raman, B., Bluemke, D. A., Lüscher, T. F., & Neubauer, S. (2022). Long COVID: post-acute sequelae of COVID-19 with a cardiovascular focus. *Eur Heart J*, *43*(11), 1157-1172. https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac031

Ranucci, M., Baryshnikova, E., Anguissola, M., Pugliese, S., Falco, M., & Menicanti, L. (2023). The Long Term Residual Effects of COVID-Associated Coagulopathy. *Int J Mol Sci*, *24*(6). https://doi.org/10.3390/ijms24065514

Rauf, A., Abu-Izneid, T., Olatunde, A., Ahmed Khalil, A., Alhumaydhi, F. A., Tufail, T., . . . Rengasamy, K. R. R. (2020). COVID-19 Pandemic: Epidemiology, Etiology, Conventional and Non-Conventional Therapies. *Int J Environ Res Public Health*, *17*(21). https://doi.org/10.3390/ijerph17218155

Rayner, D. G., Wang, E., Su, C., Patel, O. D., Aleluya, S., Giglia, A., . . . Siddique, M. (2024). Risk factors for long COVID in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *World J Pediatr*, *20*(2), 133-142. https://doi.org/10.1007/s12519-023-00765-z

Ren, Z., Liu, S., Wang, Q., Rao, B., Zeng, Z., Xu, Y., . . . Yu, Z. (2023). Alterations of the oral and gut mycobiome and cytokines during long-term follow-up of COVID-19 convalescents. *Signal Transduct Target Ther*, *8*(1), 166. https://doi.org/10.1038/s41392-023-01417-4

Riva, A., Palma, E., Devshi, D., Corrigall, D., Adams, H., Heaton, N., . . . Chokshi, S. (2021). Soluble TIM3 and Its Ligands Galectin-9 and CEACAM1 Are in Disequilibrium During Alcohol-Related Liver Disease and Promote Impairment of Anti-bacterial Immunity. *Front Physiol*, *12*, 632502. https://doi.org/10.3389/fphys.2021.632502

Robert, M., & Miossec, P. (2017). Effects of Interleukin 17 on the cardiovascular system. *Autoimmun Rev*, *16*(9), 984-991. https://doi.org/10.1016/j.autrev.2017.07.009

Rodriguez-Manzanet, R., DeKruyff, R., Kuchroo, V. K., & Umetsu, D. T. (2009). The costimulatory role of TIM molecules. *Immunol Rev*, *229*(1), 259-270. https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2009.00772.x

Roe, K. (2021). A role for T-cell exhaustion in Long COVID-19 and severe outcomes for several categories of COVID-19 patients. *J Neurosci Res*, *99*(10), 2367-2376. https://doi.org/10.1002/jnr.24917

Rokx, C., Borjas Howard, J. F., Smit, C., Wit, F. W., Pieterman, E. D., Reiss, P., . . . cohort, A. o. H. (2020). Risk of recurrent venous thromboembolism in patients with HIV

infection: A nationwide cohort study. *PLoS Med*, *17*(5), e1003101. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003101

Roussel, L., & Vinh, D. C. (2021). ICOSL in host defense at epithelial barriers: lessons from ICOSLG deficiency. *Curr Opin Immunol*, *72*, 21-26. https://doi.org/10.1016/j.coi.2021.03.001

Rudolf, H., Mügge, A., Trampisch, H. J., Scharnagl, H., März, W., & Kara, K. (2020). NT-proBNP for risk prediction of cardiovascular events and all-cause mortality: The getABI-study. *Int J Cardiol Heart Vasc*, *29*, 100553. https://doi.org/10.1016/j.ijcha.2020.100553

Salmaninejad, A., Valilou, S. F., Shabgah, A. G., Aslani, S., Alimardani, M., Pasdar, A., & Sahebkar, A. (2019). PD-1/PD-L1 pathway: Basic biology and role in cancer immunotherapy. *J Cell Physiol*, *234*(10), 16824-16837. https://doi.org/10.1002/jcp.28358

Salomone OA, O. A. (2002). [Natriuretic peptides in heart failure: improving diagnosis and management of the syndrome]. *Rev Esp Cardiol*, *55*(1), 4-6.

Sarıçam, E., Dursun, A. D., Türkmen Sarıyıldız, G., Can, N., Bozkurt, E., Gönüllü, U., . . . Ünlü, M. (2021). Laboratory and Imaging Evaluation of Cardiac Involvement in Patients with Post-Acute COVID-19. *Int J Gen Med*, *14*, 4977-4985. https://doi.org/10.2147/IJGM.S321156

Schmitt, C. A., Tchkonia, T., Niedernhofer, L. J., Robbins, P. D., Kirkland, J. L., & Lee, S. (2023). COVID-19 and cellular senescence. *Nat Rev Immunol*, *23*(4), 251-263. https://doi.org/10.1038/s41577-022-00785-2

Shahbaz, S., Bozorgmehr, N., Lu, J., Osman, M., Sligl, W., Tyrrell, D. L., & Elahi, S. (2023). Analysis of SARS-CoV-2 isolates, namely the Wuhan strain, Delta variant, and Omicron variant, identifies differential immune profiles. *Microbiol Spectr*, *11*(5), e0125623. https://doi.org/10.1128/spectrum.01256-23

Shahbaz, S., Xu, L., Sligl, W., Osman, M., Bozorgmehr, N., Mashhouri, S., . . . Elahi, S. (2021). The Quality of SARS-CoV-2-Specific T Cell Functions Differs in Patients with Mild/Moderate versus Severe Disease, and T Cells Expressing Coinhibitory Receptors Are Highly Activated. *J Immunol*, *207*(4), 1099-1111. https://doi.org/10.4049/jimmunol.2100446

Shahidi, M. (2017). Thrombosis and von Willebrand Factor. *Adv Exp Med Biol*, *906*, 285-306. https://doi.org/10.1007/5584_2016_122

Sharov, K. S. (2021). HIV/SARS-CoV-2 co-infection: T cell profile, cytokine dynamics and role of exhausted lymphocytes. *Int J Infect Dis*, *102*, 163-169. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.10.049

Shen, X., Xue, Y., Cong, H., Wang, X., & Ju, S. (2018). Dysregulation of serum microRNA-574-3p and its clinical significance in hepatocellular carcinoma. *Ann Clin Biochem*, *55*(4), 478-484. https://doi.org/10.1177/0004563217741908

Siddiqi, H. K., & Mehra, M. R. (2020). COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal. *J Heart Lung Transplant*, *39*(5), 405-407. https://doi.org/10.1016/j.healun.2020.03.012

Siew, E. D., & Matheny, M. E. (2015). Choice of Reference Serum Creatinine in Defining Acute Kidney Injury. *Nephron*, *131*(2), 107-112. https://doi.org/10.1159/000439144

Silva, J., Takahashi, T., Wood, J., Lu, P., Tabachnikova, A., Gehlhausen, J. R., . . . Iwasaki, A. (2024). Sex differences in symptomatology and immune profiles of Long COVID. *medRxiv*. https://doi.org/10.1101/2024.02.29.24303568

Simonini, L., Sbrana, S., Foffa, I., Baroni, M., Catapano, G., Chiappino, D., . . . Mannucci, F. (2022). Relationships between plasma cytokine balance and cardiac magnetic resonance imaging in long-term post-COVID follow-up: a cross-sectional preliminary study. *European Heart Journal*, *43*(Supplement_2), ehac544-245.

Soetkamp, D., Raedschelders, K., Mastali, M., Sobhani, K., Bairey Merz, C. N., & Van Eyk, J. (2017). The continuing evolution of cardiac troponin I biomarker analysis: from protein to proteoform. *Expert Rev Proteomics*, *14*(11), 973-986. https://doi.org/10.1080/14789450.2017.1387054

Soriano, J. B., & Ancochea, J. (2021). On the New Post COVID-19 Condition. *Arch Bronconeumol (Engl Ed)*, *57*(12), 735-736. https://doi.org/10.1016/j.arbres.2021.04.001

Ssentongo, P., Heilbrunn, E. S., Ssentongo, A. E., Advani, S., Chinchilli, V. M., Nunez, J. J., & Du, P. (2021). Epidemiology and outcomes of COVID-19 in HIV-infected individuals: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*, *11*(1), 6283. https://doi.org/10.1038/s41598-021-85359-3

Stefano, G. B., Büttiker, P., Weissenberger, S., Anders, M., Raboch, J., Ptacek, R., & Kream, R. M. (2023). Potential Prion Involvement in Long COVID-19 Neuropathology, Including Behavior. *Cell Mol Neurobiol*, *43*(6), 2621-2626. https://doi.org/10.1007/s10571-023-01342-8

Su, J. H., Luo, M. Y., Liang, N., Gong, S. X., Chen, W., Huang, W. Q., . . . Wang, A. P. (2021). Interleukin-6: A Novel Target for Cardio-Cerebrovascular Diseases. *Front Pharmacol*, *12*, 745061. https://doi.org/10.3389/fphar.2021.745061

Su, Y., Ni, Z., Wang, G., Cui, J., Wei, C., Wang, J., . . . Li, F. (2012). Aberrant expression of microRNAs in gastric cancer and biological significance of miR-574-3p. *Int*

Immunopharmacol, *13*(4), 468-475. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2012.05.016

Sun, X., Jiao, X., Pestell, T. G., Fan, C., Qin, S., Mirabelli, E., . . . Pestell, R. G. (2014). MicroRNAs and cancer stem cells: the sword and the shield. *Oncogene*, *33*(42), 4967-4977. https://doi.org/10.1038/onc.2013.492

Sun, X., Liu, J., Xu, C., Tang, S. C., & Ren, H. (2016). The insights of Let-7 miRNAs in oncogenesis and stem cell potency. *J Cell Mol Med*, *20*(9), 1779-1788. https://doi.org/10.1111/jcmm.12861

Suttisintong, K., Kaewchangwat, N., Thanayupong, E., Nerungsi, C., Srikun, O., & Pungpo, P. (2019). Recent Progress in the Development of HIV-1 Entry Inhibitors: From Small Molecules to Potent Anti-HIV Agents. *Curr Top Med Chem*, *19*(18), 1599-1620. https://doi.org/10.2174/1568026619666190712204050

Tasca, K. I., Calvi, S. A., & Souza, L. o. R. (2012). Immunovirological parameters and cytokines in HIV infection. *Rev Soc Bras Med Trop*, *45*(6), 663-669. https://doi.org/10.1590/s0037-86822012000600002

Tatarano, S., Chiyomaru, T., Kawakami, K., Enokida, H., Yoshino, H., Hidaka, H., . . . Nakagawa, M. (2012). Novel oncogenic function of mesoderm development candidate 1 and its regulation by MiR-574-3p in bladder cancer cell lines. *Int J Oncol*, *40*(4), 951-959. https://doi.org/10.3892/ijo.2011.1294

Tchkonia, T., Zhu, Y., van Deursen, J., Campisi, J., & Kirkland, J. L. (2013). Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J Clin Invest*, *123*(3), 966-972. https://doi.org/10.1172/JCI64098

Ten Cate, H., Hackeng, T. M., & García de Frutos, P. (2017). Coagulation factor and protease pathways in thrombosis and cardiovascular disease. *Thromb Haemost*, *117*(7), 1265-1271. https://doi.org/10.1160/TH17-02-0079

Tikellis, C., & Thomas, M. C. (2012). Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2) Is a Key Modulator of the Renin Angiotensin System in Health and Disease. *Int J Pept*, *2012*, 256294. https://doi.org/10.1155/2012/256294

Townsend, L., Fogarty, H., Dyer, A., Martin-Loeches, I., Bannan, C., Nadarajan, P., . . . O'Donnell, J. S. (2021). Prolonged elevation of D-dimer levels in convalescent COVID-19 patients is independent of the acute phase response. *J Thromb Haemost*, *19*(4), 1064-1070. https://doi.org/10.1111/jth.15267

Tripathi, U., Nchioua, R., Prata, L. G. P. L., Zhu, Y., Gerdes, E. O. W., Giorgadze, N., . . . Kirkland, J. L. (2021). SARS-CoV-2 causes senescence in human cells and exacerbates the senescence-associated secretory phenotype through TLR-3. *Aging (Albany NY)*, *13*(18), 21838-21854. https://doi.org/10.18632/aging.203560

Turner, B. G., & Summers, M. F. (1999). Structural biology of HIV. *J Mol Biol*, *285*(1), 1-32. https://doi.org/10.1006/jmbi.1998.2354

Uyttenhove, C., Pilotte, L., Théate, I., Stroobant, V., Colau, D., Parmentier, N., . . . Van den Eynde, B. J. (2003). Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Nat Med*, *9*(10), 1269-1274. https://doi.org/10.1038/nm934

Vaduganathan, M., Vardeny, O., Michel, T., McMurray, J. J. V., Pfeffer, M. A., & Solomon, S. D. (2020). Renin-Angiotensin-Aldosterone System Inhibitors in Patients with Covid-19. *N Engl J Med*, *382*(17), 1653-1659. https://doi.org/10.1056/NEJMsr2005760

Valekova, I., Skalnikova, H. K., Jarkovska, K., Motlik, J., & Kovarova, H. (2015). Multiplex immunoassays for quantification of cytokines, growth factors, and other proteins in stem cell communication. *Methods Mol Biol*, *1212*, 39-63. https://doi.org/10.1007/7651_2014_94

Van Coillie, S., Wiernicki, B., & Xu, J. (2020). Molecular and Cellular Functions of CTLA-4. *Adv Exp Med Biol*, *1248*, 7-32. https://doi.org/10.1007/978-981-15-3266-5_2

van Hout, G. P. J., & Bosch, L. (2018). The Inflammasomes in Cardiovascular Disease. *Exp Suppl*, *108*, 9-40. https://doi.org/10.1007/978-3-319-89390-7_2

Viruses, C. S. G. o. t. I. C. o. T. o. (2020). The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*, *5*(4), 536-544. https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z

Vischer, U. M. (2006). von Willebrand factor, endothelial dysfunction, and cardiovascular disease. *J Thromb Haemost*, *4*(6), 1186-1193. https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2006.01949.x

Visseaux, B., Damond, F., Matheron, S., Descamps, D., & Charpentier, C. (2016). Hiv-2 molecular epidemiology. *Infect Genet Evol*, *46*, 233-240. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.08.010

Vlachos, I. S., Paraskevopoulou, M. D., Karagkouni, D., Georgakilas, G., Vergoulis, T., Kanellos, I., . . . Hatzigeorgiou, A. G. (2015). DIANA-TarBase v7.0: indexing more than half a million experimentally supported miRNA:mRNA interactions. *Nucleic Acids Res*, *43*(Database issue), D153-159. https://doi.org/10.1093/nar/gku1215

Voloshyna, I., Littlefield, M. J., & Reiss, A. B. (2014). Atherosclerosis and interferon-γ: new insights and therapeutic targets. *Trends Cardiovasc Med*, *24*(1), 45-51. https://doi.org/10.1016/j.tcm.2013.06.003

Volpe, M., Rubattu, S., & Burnett, J. (2014). Natriuretic peptides in cardiovascular diseases: current use and perspectives. *Eur Heart J*, *35*(7), 419-425. https://doi.org/10.1093/eurheartj/eht466

Wang, D. D., Chen, X., Yu, D. D., Yang, S. J., Shen, H. Y., Sha, H. H., . . . Tang, J. H. (2016). miR-197: A novel biomarker for cancers. *Gene*, *591*(2), 313-319. https://doi.org/10.1016/j.gene.2016.06.035

Wang, J., Wu, G., Manick, B., Hernandez, V., Renelt, M., Erickson, C., . . . Kalabokis, V. (2019). VSIG-3 as a ligand of VISTA inhibits human T-cell function. *Immunology*, *156*(1), 74-85. https://doi.org/10.1111/imm.13001

Wang, L., Shui, X., Zhang, M., Mei, Y., Xia, Y., Lan, G., . . . Lee, T. H. (2022). MiR-191-5p Attenuates Tau Phosphorylation, Aβ Generation, and Neuronal Cell Death by Regulating Death-Associated Protein Kinase 1. *ACS Chem Neurosci*, *13*(24), 3554-3566. https://doi.org/10.1021/acschemneuro.2c00423

Wang, M., Zhang, R., Zhang, S., Xu, R., & Yang, Q. (2019). MicroRNA-574-3p regulates epithelial mesenchymal transition and cisplatin resistance via targeting ZEB1 in human gastric carcinoma cells. *Gene*, *700*, 110-119. https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.03.043

Wang, W., Liu, X., Wu, S., Chen, S., Li, Y., Nong, L., . . . He, J. (2020). Definition and Risks of Cytokine Release Syndrome in 11 Critically Ill COVID-19 Patients With Pneumonia: Analysis of Disease Characteristics. *J Infect Dis*, *222*(9), 1444-1451. https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa387

White, M. C., Wu, X., & Damania, B. (2022). Oncogenic viruses, cancer biology, and innate immunity. *Curr Opin Immunol*, *78*, 102253. https://doi.org/10.1016/j.coi.2022.102253

White, M. K., Pagano, J. S., & Khalili, K. (2014). Viruses and human cancers: a long road of discovery of molecular paradigms. *Clin Microbiol Rev*, *27*(3), 463-481. https://doi.org/10.1128/CMR.00124-13

Wilbur, J., & Shian, B. (2012). Diagnosis of deep venous thrombosis and pulmonary embolism. *Am Fam Physician*, *86*(10), 913-919.

Willems, L. H., Jacobs, L. M. C., Groh, L. A., Ten Cate, H., Spronk, H. M. H., Wilson-Storey, B., . . . Warlé, M. C. (2023). Vascular Function, Systemic Inflammation, and Coagulation Activation 18 Months after COVID-19 Infection: An Observational Cohort Study. *J Clin Med*, *12*(4). https://doi.org/10.3390/jcm12041413

Willems, L. H., Nagy, M., Ten Cate, H., Spronk, H. M. H., Groh, L. A., Leentjens, J., . . . Warlé, M. C. (2022). Sustained inflammation, coagulation activation and elevated endothelin-1 levels without macrovascular dysfunction at 3 months

after COVID-19. *Thromb Res*, *209*, 106-114. https://doi.org/10.1016/j.thromres.2021.11.027

Williams, J. W., Huang, L. H., & Randolph, G. J. (2019). Cytokine Circuits in Cardiovascular Disease. *Immunity*, *50*(4), 941-954. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.007

Williams, M. J., Poulton, R., & Williams, S. (2002). Relationship of serum ferritin with cardiovascular risk factors and inflammation in young men and women. *Atherosclerosis*, *165*(1), 179-184. https://doi.org/10.1016/s0021-9150(02)00233-2

Wissler Gerdes, E. O., Vanichkachorn, G., Verdoorn, B. P., Hanson, G. J., Joshi, A. Y., Murad, M. H., . . . Kirkland, J. L. (2022). Role of senescence in the chronic health consequences of COVID-19. *Transl Res*, *241*, 96-108. https://doi.org/10.1016/j.trsl.2021.10.003

Wong Vega, M., Swartz, S. J., Devaraj, S., & Poyyapakkam, S. (2020). Elevated Serum Creatinine: But Is It Renal Failure? *Pediatrics*, *146*(1). https://doi.org/10.1542/peds.2019-2828

Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., . . . Zhang, Y. Z. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, *579*(7798), 265-269. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3

Wykes, M. N., & Lewin, S. R. (2018). Immune checkpoint blockade in infectious diseases. *Nat Rev Immunol*, *18*(2), 91-104. https://doi.org/10.1038/nri.2017.112

Wyld, L., Bellantuono, I., Tchkonia, T., Morgan, J., Turner, O., Foss, F., . . . Kirkland, J. L. (2020). Senescence and Cancer: A Review of Clinical Implications of Senescence and Senotherapies. *Cancers (Basel)*, *12*(8). https://doi.org/10.3390/cancers12082134

Xie, C., Chen, Y., Luo, D., Zhuang, Z., Jin, H., Zhou, H., . . . Huang, H. (2021). Therapeutic potential of C1632 by inhibition of SARS-CoV-2 replication and viral-induced inflammation through upregulating let-7. *Signal Transduct Target Ther*, *6*(1), 84. https://doi.org/10.1038/s41392-021-00497-4

Yang, H., Zhang, J., Li, J., Zhao, F., Shen, Y., & Xing, X. (2018). Overexpression of miR-574-3p suppresses proliferation and induces apoptosis of chronic myeloid leukemia cells via targeting IL6/JAK/STAT3 pathway. *Exp Ther Med*, *16*(5), 4296-4302. https://doi.org/10.3892/etm.2018.6700

Yang, X., Greenhaw, J., Shi, Q., Su, Z., Qian, F., Davis, K., . . . Salminen, W. F. (2012). Identification of urinary microRNA profiles in rats that may diagnose hepatotoxicity. *Toxicol Sci*, *125*(2), 335-344. https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr321

Yang, Y., & Iwasaki, A. (2022). Impact of Chronic HIV Infection on SARS-CoV-2 Infection, COVID-19 Disease and Vaccines. *Curr HIV/AIDS Rep*, *19*(1), 5-16. https://doi.org/10.1007/s11904-021-00590-x

Yarchoan, R., & Uldrick, T. S. (2018). HIV-Associated Cancers and Related Diseases. *N Engl J Med*, *378*(11), 1029-1041. https://doi.org/10.1056/NEJMra1615896

Zaidi, A. K., Singh, R. B., A A Rizvi, S., Dehgani-Mobaraki, P., & Palladino, N. (2024). COVID-19 pathogenesis. *Prog Mol Biol Transl Sci*, *202*, 67-112. https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2023.07.001

Zang, J., Ye, J., Zhang, C., Sha, M., & Gao, J. (2019). Senescent hepatocytes enhance natural killer cell activity via the CXCL-10/CXCR3 axis. *Exp Ther Med*, *18*(5), 3845-3852. https://doi.org/10.3892/etm.2019.8037

Zhang, L. M., Zhang, J., Zhang, Y., Fei, C., Wang, L., Yi, Z. W., & Zhang, Z. Q. (2019). Interleukin-18 promotes fibroblast senescence in pulmonary fibrosis through down-regulating Klotho expression. *Biomed Pharmacother*, *113*, 108756. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108756

Zhao, Y., Shao, Q., & Peng, G. (2020). Exhaustion and senescence: two crucial dysfunctional states of T cells in the tumor microenvironment. *Cell Mol Immunol*, *17*(1), 27-35. https://doi.org/10.1038/s41423-019-0344-8

Zhou, Q., Zhang, L., Dong, Y., Wang, Y., Zhang, B., Zhou, S., . . . Chen, G. (2023). The role of SARS-CoV-2-mediated NF-κB activation in COVID-19 patients. *Hypertens Res*. https://doi.org/10.1038/s41440-023-01460-2

Zhu, Y., Zhang, S., Li, Z., Wang, H., Hu, Y., Chen, H., . . . He, W. (2019). miR-125b-5p and miR-99a-5p downregulate human γδ T-cell activation and cytotoxicity. *Cell Mol Immunol*, *16*(2), 112-125. https://doi.org/10.1038/cmi.2017.164

Zicari, S., Sessa, L., Cotugno, N., Ruggiero, A., Morrocchi, E., Concato, C., . . . Palma, P. (2019). Immune Activation, Inflammation, and Non-AIDS Co-Morbidities in HIV-Infected Patients under Long-Term ART. *Viruses*, *11*(3). https://doi.org/10.3390/v11030200

Zilber, E., Martin, G. E., Willberg, C. B., Fox, J., Nwokolo, N., Fidler, S., . . . Investigators, C. (2019). Soluble plasma programmed death 1 (PD-1) and Tim-3 in primary HIV infection. *AIDS*, *33*(7), 1253-1256. https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000002165

8. ANEXOS

Anexo I. Hospitales participantes en el estudio.

Listado de hospitales y centro incluidos en el estudio:

- Centro Sanitario Sandoval (Madrid).
- Hospital General Universitario Dr. Balmis (Alicante).
- Hospital Universitario Central de Asturias (Asturias).
- Hospital Universitario de Bellvitge (Barcelona).
- Hospital Universitario 12 de Octubre (Madrid).
- Hospital General Universitario de Elche (Alicante).
- Hospital General Universitario Gregorio Marañón (Madrid).
- Hospital Universitario Infanta Sofía (Madrid).
- Hospital Joan XXIII (Tarragona).
- Hospital Universitario La Paz (Madrid).
- Hospital Universitario de La Princesa (Madrid)
- Hospital Universitario Ramón y Cajal (Madrid).

Anexo II. Paneles Procartaplex Multiplex Immunoassays

Human Cytokine Storm Panel 21-Plex

Nombre biomarcador	Símbolo oficial	Descripción completa
Citoquinas relacionadas con el SASP		
G-CSF	CSF3	Factor estimulante de granulocitos 3
GM-CSF	CSF1	Factor estimulante de granulocitos y macrófagos 2
IFN-γ	IFNG	Interferón gamma
IL-1β	IL1B	Interleuquina 1 beta
IL-6	IL6	Interleuquina 6
IL-13	IL13	Interleuquina 13
IL-18	IL18	Interleuquina 18
TNF-α	TNF	Factor de necrosis tumoral alfa
TNF-β	LTA	Factor de necrosis tumoral beta/Linfotoxina alfa
MCP-1	CCL2	Proteína quimioatrayente de monocitos/Ligando 2 de quimioquina con motivo C-X-C
MIP-1α	CCL3	Proteína inflamatoria de los macrófagos de tipo 1-alfa/Ligando 3 de quimioquina con motivo C-C
MIP-1β	CCL4	Proteína inflamatoria de los macrófagos de tipo 1-beta/Ligando 4 de quimioquina con motivo C-C
IL-8	CXCL8	Interleuquina 8/ Ligando 8 de quimioquina con motivo C-X-C
IP-10	CXCL10	Proteína 10 inducible por interferón gamma/Ligando 10 de quimioquina con motivo C-X-C
Citoquinas anti y proinflamatorias		
IL-2	IL2	Interleuquina 2
IL-4	IL4	Interleuquina 4
IL-5	IL5	Interleuquina 5
IL-10	IL10	Interleuquina 10
IL-12p70	IL12B	Interleuquina 12
IL-17A	IL17A	Interleuquina 17A

IFN-α	IFNA1	Interferón alfa/interferón alfa 1

Immuno-Oncology Checkpoint 14-Plex Human ProcartaPlex™ Panel 1

Nombre biomarcador	Símbolo oficial	Descripción completa
Superfamilia de las inmunoglobulinas		
	Familia B7	
CD80	CD80	Molécula CD80
PD-L1	CD274	Ligando 1 de muerte celular programada/Molécula CD274
PD-L2	PDCD1LG2	Ligando 2 de muerte celular programada
	Familia CD28	
CD28	CD28	Molécula CD28
PD-1	PDCD1	Proteína de muerte celular programada
BTLA	BTLA	Atenuador de linfocitos B y T
CD152	CTLA4	Molécula CD152/Antígeno 4 de linfocitos T citotóxicos
	Familia no específica	
LAG3	LAG3	Gen 3 de activación de linfocitos
Familia TIM		
TIM3	HAVCR2	Dominio de inmunoglobulina y dominio 3 de mucina de células/Receptor celular 2 del virus de la hepatitis A
Familia TNF/RSF		
CD137/4-1BB	TNFRSF9	Molécula CD137/ Miembro 9 de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral
CD27	CD27	Molécula CD27
GITR	TNFRSF18	Proteína relacionada con el receptor TNFR inducidao por glucocorticoides humanos/Miembro 18 de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral
HVEM	TNFRSF14	Mediador de entrada del virus herpes/Miembro 14 de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral
Enzima		
IDO	IDO1	Indolamida 2,3-dioxigenasa

Immuno-Oncology Checkpoint 9-Plex Human ProcartaPlex™ Panel 3

Nombre biomarcador	Símbolo oficial	Descripción completa
Superfamilia de las inmunoglobulinas		
	Familia B7	
ICOSL	ICOSL	Ligando de ICOS
B7H6	NCR3LG1	Ligando 1 del receptor 3 desencadenante de citotoxicidad natural
CD276	CD276	Molécula CD276
VISTA	VSIR	Supresor de la activación de linfocitos T con dominio variable de inmunoglobulina/ Receptor inmunorregulador del conjunto V
	Familia IgFCAMS	
CD48	CD48	Molécula CD48
	Familia no específica	
CD47	CD47	Molécula CD47
Familia TIM		
TIM-4	TIMD4	Dominio de inmunoglobulina y dominio 4 de mucina de células T
Familia TNF/RSF		
CD134	TNFRSF4	Molécula CD134/Miembro 4 de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral
S100		
S100-A8/A9	S100-A8/A9	Proteína de unión al calcio S100 A8/A9

Coagulation 6-Plex Human ProcartaPlex™ Panel 1

Nombre biomarcador	Símbolo oficial	Descripción completa
Proteína C reactiva	CRP	Proteína C reactiva
Antitrombina	SERPINC1	Antitrombina III
Protrombina	F2	Protrombina
Factor XI	F11	Factor de coagulación XI
Factor XII	F12	Factor de coagulación XII
Factor XIII	F13	Factor de coagulación XIII

Coagulation 4-Plex Human ProcartaPlex™ Panel 3

Nombre biomarcador	Símbolo oficial	Descripción completa
Factor IX	F9	Factor IX
Proteína S	PROS1	Proteína S dependiente de Vitamina K
Proteína C	PROC	Proteína C dependiente de Vitamina K
Factor von Willebrand	vWF	Factor von Willebrand

Custom Panels - Procartaplex multiplex immunoassays

Nombre biomarcador	Símbolo oficial	Descripción completa
Troponina I	TNNI3	Troponina I, músculo cardiaco
NT-proBNP	-	Péptido natriurético tipo pro-N-terminal

Nombre biomarcador	Símbolo oficial	Descripción completa
Ferritina	-	Ferritina
Dímero D	-	Dímero D

Anexo III. Niveles de biomarcadores plasmáticos relacionados con inflamación crónica y envejecimiento prematuro

Niveles de biomarcadores plasmáticos relacionados con inflamación crónica.

	Mediana [RIC]		Análisis univariante			Análisis multivariante		
Biomarcadores	**VIH/SARS**	**VIH**	**AMR**	**p**	**q**	**aAMR**	**p**	**q**
Citoquinas								
IL-2	11,00[8,00-16,62]	9,00[6,50-11,00]	1,73[0,99-3,02]	**0,055**	0,101	1,45[0,80-2,66]	0,217	0,341
IL-4	14,00[11,00-17,00]	11,50[10,00-13,00]	1,34[1,12-1,60]	**0,002**	***0,010****	1,27[1,03-1,55]	**0,024**	***0,076****
IL-5	10,50[9,00-13,00]	10,00[8,50-11,00]	1,12[0,98-1,27]	0,103	0,157	1,13[0,98-1,32]	0,102	0,188
IL-10	12,75[11,00-16,38]	13,00[10,00-15,00]	1,08[0,92-1,27]	0,340	0,383	0,99[0,82-1,20]	0,936	0,957
IL-12p70	13,25[9,88-17,62]	10,00[8,00-11,00]	1,56[1,26-1,94]	**≤0,001**	***0,002****	1,57[1,21-2,03]	**≤0,001**	***0,011****
IL-17A	14,50[11,88-19,00]	13,00[11,00-15,00]	1,38[1,16-1,63]	**≤0,001**	***0,003****	1,30[1,06-1,59]	**0,010**	***0,038****
IFN-α	23,25[19,38-31,00]	22,50[20,00-26,00]	1,17[1,02-1,34]	**0,026**	0,061	1,19[1,02-1,40]	**0,027**	***0,076****

Notas. *Estadísticas*: Los valores se expresan como la mediana de niveles los niveles de fluorescencia cruda de biomarcadores plasmáticos relacionados con inflamación crónica [RIC]. Las estimas se obtuvieron como el ratio de la media aritmética (AMR) que se ajustó por sexo y origen étnico (aAMR) mediante un modelo MLG. El p valor (p) se corrigió (q) por tasa de falso descubrimiento (FDR). *Se definieron como valores significativos aquellos con aAMR≥1,2 o ≤0,8 y q<0,1. *Abreviaciones*: RIC, rango intercuartílico; AMR, ratio de la media aritmética; aAMR, ratio de la media aritmética ajustada; p, valor de p; q, valor de p corregido.

Niveles de biomarcadores plasmáticos relacionados con envejecimiento prematuro

	Mediana [RIC]		Análisis univariante			Análisis multivariante		
Biomarcadores	**VIH/SARS**	**VIH**	**AMR**	**p**	**q**	**aAMR**	**p**	**q**
Factores estimuladores de colonias								
G-CSF	16,00[14,00-19,00]	17,00[15,50-19,00]	0,99[0,89-1,10]	0,843	0,862	0,97[0,85-1,10]	0,614	0,675
GM-CSF	10,25[8,00-13,00]	8,00[7,00-10,50]	1,16[0,89-5,51]	0,259	0,317	1,12[0,82-1,51]	0,472	0,577
Citoquinas								
IL-1β	12,00[10,38-16,00]	10,00[9,00-12,00]	1,23[1,02-1,47]	**0,033**	***0,072****	1,19[0,96-1,47]	0,109	0,191
IL-6	23,75[19,38-33,25]	27,00[22,00-32,00]	1,05[0,84-1,31]	0,685	0,754	1,00[0,78-1,28]	0,983	0,983
IL-13	19,50[14,00-24,12]	14,00[11,00-18,00]	1,37[1,13-1,67]	**0,002**	***0,010****	1,30[1,04-1,62]	**0,023**	***0,076****
IL-18	37,75[27,75-97,38]	27,50[22,00-41,62]	1,29[0,78-2,13]	0,319	0,370	1,17[0,67-2,06]	0,575	0,671
TNF-α	15,00[11,00-24,00]	11,50[10,00-15,00]	1,31[0,99-1,73]	**0,065**	0,110	1,24[0,92-1,69]	0,158	0,258
TNF-β	21,00[15,75-29,29]	18,50[15,50-22,00]	1,40[1,10-1,77]	**0,007**	***0,022****	1,36[1,03-1,80]	**0,028**	***0,076****
IFN-γ	29,00[19,88-71,75]	22,00[17,00-39,00]	1,34[0,88-2,06]	0,174	0,233	1,27[0,76-2,11]	0,343	0,444
Quimioquinas								
MCP-1	168,75[98,25-254,50]	267,00[211,50-364,00]	0,73[0,56-0,95]	**0,019**	***0,047****	0,74[0,54-1,01]	**0,058**	0,121
MIP-1α	56,25[42,12-102,75]	42,00[32,00-56,00]	2,62[1,64-4,18]	**≤0,001**	***0,002****	2,60[1,47-4,61]	**≤0,001**	***0,011****
MIP-1β	98,00[73,75-139,50]	82,00[66,00-115,00]	1,19[0,99-1,44]	**0,073**	0,120	1,25[1,01-1,56]	**0,042**	***0,098****
IL-8	42,25[32,62-75,25]	37,50[29,00-45,00]	1,45[1,19-1,77]	**≤0,001**	***0,003****	1,41[1,13-1,76]	**0,003**	***0,020****
IP-10	475,00[364,25-660,75]	356,00[176,00-610,00]	1,20[0,89-1,61]	0,226	0,284	1,36[0,98-1,32]	**0,063**	0,126

Notas. *Estadísticas*: Los valores se expresan como la mediana de niveles los niveles de fluorescencia cruda de biomarcadores plasmáticos relacionados con envejecimiento prematuro [RIC]. Las estimas se obtuvieron como el ratio de la media aritmética (AMR) que se ajustó por sexo y origen étnico (aAMR) mediante un modelo MLG. El p valor (p) se corrigió (q) por tasa de falso descubrimiento (FDR). Los valores significativos se indican con un asterisco, en negrita y cursiva, y se definieron como aAMR≥1,2 o ≤ 0,8 y q<0,1. *Abreviaciones*: RIC, rango intercuartílico; AMR, ratio de la media aritmética; aAMR, ratio de la media aritmética ajustada; p, valor de p; q, valor de p corregido.

Anexo IV. Niveles de biomarcadores plasmáticos relacionados con el riesgo de desarrollo de cáncer.

Niveles de biomarcadores plasmáticos relacionadas con el riesgo de desarrollo de cáncer.

			Mediana [RIC]		Análisis univariante			Análisis multivariante		
	Biomarcadores		VIH/SARS	VIH	AMR	p	q	aAMR	p	q
Superfamilia inmunoglobulinas	B7	*CD80*	36,00[29,75-71,00]	26,00[21,12-32,00]	1,64[1,19-2,25]	**0,003**	***0,012****	1,80[1,27-2,56]	**0,001**	***0,011****
		ICOSL	279,75[227,75-345,88]	270,50[222,00-305,00]	1,08[0,97-1,21]	0,175	0,233	1,07[0,95-1,22]	0,282	0,401
		PD-L1	19,25[16,62-22,50]	18,50[16,00-22,00]	1,24[0,89-1,71]	0,199	0,258	1,21[0,87-1,67]	0,273	0,400
		PD-L2	113,00[92,50-142,00]	91,50[77,00-106,88]	1,27[1,09-1,48]	**0,002**	***0,010****	1,25[1,06-1,48]	**0,010**	***0,038****
		B7H6	17,00[15,00-21,25]	16,50[14,00-20,50]	0,98[0,80-1,20]	0,829	0,862	0,94[0,75-1,18]	0,579	0,671
		CD276	3888,75[3209,62-4536,62]	3020,0[2393,50-3668,25]	1,27[1,13-1,42]	**0,000**	***0,002****	1,28[1,13-1,45]	**0,000**	***0,011***
		VSIR	18,00[15,00-24,62]	16,00[13,25-21,00]	1,39[0,95-2,03]	**0,095**	0,149	1,20[0,85-1,72]	0,304	0,406
	CD28	*CD28*	26,00[20,00-44,00]	20,25[18,00-24,00]	1,24[0,81-1,89]	0,318	0,370	1,13[0,71-1,82]	0,607	0,675
		PD-1	41,00[33,00-63,75]	29,50[24,00-40,38]	1,61[1,23-2,10]	**0,001**	***0,005****	1,65[1,24-2,20]	**0,001**	***0,011****
		BTLA	69,5[057,50-94,50]	62,25[44,38-82,25]	1,29[0,92-1,82]	0,140	0,198	1,32[0,92-1,90]	0,127	0,215
		CD152	39,00[28,75-56,50]	28,50[24,00-44,00]	1,56[0,99-2,46]	**0,057**	0,101	1,18[0,79-1,80]	0,421	0,529
	CD2	*CD48*	17,00[13,38-22,00]	14,00[11,50-16,00]	1,34[1,06-1,68]	**0,015**	***0,041****	1,16[0,91-1,48]	0,226	0,342
	Otras	*CD47*	26,50[22,00-34,00]	24,00[19,50-29,25]	1,16[1,01-1,34]	0,036	0,075	1,25[1,08-1,46]	**0,004**	***0,023****
		LAG-3	25,50[21,00-32,50]	19,50[16,25-24,38]	1,06[0,77-1,45]	0,727	0,780	1,09[0,75-1,57]	0,662	0,710
	TIM	*TIM-3*	154,75[131,75-192,75]	145,00[114,12-169,75]	1,18[1,05-1,33]	0,007	0,023	1,25[1,10-1,42]	**0,001**	***0,011****
		TIM-4	149,00[98,25-251,50]	125,00[79,75-191,00]	1,22[0,95-1,56]	0,125	0,184	1,37[1,03-1,82]	**0,030**	***0,078****
	TNF/RSF	*CD137*	45,00[33,50-66,75]	34,25[28,00-45,38]	1,34[1,00-1,80]	**0,052**	0,101	1,39[1,03-1,87]	**0,034**	***0,082****
		CD27	2630,50[1478,50-3648,75]	2958,50[2348,25-3869,50]	0,84[0,70-1,00]	0,056	0,101	0,90[0,73-1,10]	0,301	0,406
		GITR	28,50[21,75-43,00]	23,00[21,00-28,75]	1,53[1,08-2,15]	**0,018**	***0,047****	1,66[1,16-2,37]	**0,007**	***0,033****
		HVEM	31,00[25,12-36,75]	25,00[22,00-27,8]	1,46[1,20-1,77]	**0,000**	***0,003****	1,35[1,09-1,69]	**0,007**	***0,033****
		CD134	39,50[34,00-49,50]	35,00[29,00-39,75]	1,37[1,08-1,75]	**0,012**	***0,036****	1,30[1,01-1,69]	0,046	0,101
	100	*S100A8A9*	75,75[66,00-95,75]	73,00[55,25-106,50]	0,99[0,86-1,14]	0,901	0,901	1,01[0,86-1,19]	0,867	0,908
	E	*IDO*	98,00[55,00-246,50]	45,50[28,25-90,38]	3,10[1,40-6,84]	**0,006**	***0,021****	2,04[0,92-4,60]	**0,066**	0,126

Notas. *Estadísticas*: Los valores se expresan como la mediana de niveles los niveles de fluorescencia cruda de biomarcadores plasmáticos relacionados con el riesgo de desarrollo de cáncer [RIC]. Las estimas se obtuvieron como el ratio de la media aritmética (AMR) que se ajustó por sexo y origen étnico (aAMR) mediante un modelo MLG. El p valor (p) se corrigió (q) por tasa de falso descubrimiento (FDR). Los valores significativos se indican con un asterisco, en negrita y cursiva, y se definieron como aAMR≥1,2 o ≤ 0,8 y q<0,1. *Abreviaciones*: E, enzima; RIC, rango intercuartílico; AMR, ratio de la media aritmética; aAMR, ratio

Anexo V. Asociaciones entre biomarcadores plasmáticos asociados a inflamación crónica, envejecimiento prematuro y riesgo de desarrollo de cáncer en individuos del grupo VIH/SARS.

Relación entre biomarcadores plasmáticos asociados a inflamación crónica y envejecimiento prematuro con el riesgo de desarrollo de cáncer en el grupo VIH/SARS.

			Proteínas asociadas a PCI																			
			CD80		***PD-L2***		***CD276***		***PD-1***		***CD47***		***TIM-3***		***TIM-4***		***CD137/4-1BB***		***GITR***		***HVEM***	
			Rho	q	Rho	q	Rho	q	Rho	q	Rho	q	Rho	q	Rho	q	Rho	q	Rho	q	Rho	q
Citoquinas inflamatorias	**SASP**	*IL-13*	0,31	***0,073****	-0,20	0,600	-0,34	0,151	0,24	0,256	-0,12	0,852	-0,12	0,678	0,07	0,809	0,26	0,173	0,37	***0,024****	0,33	***0,071****
		TNF-β	0,34	***0,073****	-0,11	0,600	-0,27	0,188	0,31	0,152	-0,11	0,852	-0,11	0,678	0,10	0,809	0,25	0,173	0,44	***0,019****	0,46	***0,012****
		MIP-1α	0,27	0,128	-0,09	0,600	-0,08	0,731	0,22	0,256	0,20	0,852	-0,02	0,915	0,15	0,809	0,23	0,173	0,37	***0,024****	0,19	0,302
		MIP-1β	0,03	0,843	0,03	0,862	0,01	0,949	0,12	0,482	-0,07	0,852	0,15	0,678	0,16	0,809	0,17	0,316	0,13	0,406	0,06	0,697
		IL-8	0,23	0,174	-0,25	0,600	-0,07	0,731	0,07	0,662	0,02	0,905	-0,15	0,678	0,09	0,809	0,10	0,494	0,19	0,229	0,09	0,697
	Otras citoquinas	*IL-4*	0,19	0,247	-0,10	0,600	-0,08	0,731	0,15	0,423	-0,08	0,852	-0,16	0,678	-0,05	0,809	0,13	0,442	0,33	***0,040****	0,07	0,697
		IL-12p70	0,31	***0,073****	-0,10	0,600	-0,31	0,151	0,23	0,256	0,13	0,852	-0,05	0,810	0,04	0,809	0,33	0,173	0,29	0,070	0,30	0,098
		IL-17A	0,10	0,562	-0,17	0,600	-0,16	0,613	0,18	0,346	-0,05	0,852	-0,06	0,810	0,08	0,809	0,25	0,173	0,23	0,164	0,34	***0,071****
		IFN-α	0,32	***0,073****	-0,10	0,600	-0,08	0,731	0,33	0,152	-0,06	0,852	-0,21	0,678	-0,08	0,809	0,24	0,173	0,39	***0,024****	0,22	0,239

Notas. *Estadística*: Rho, coeficiente de correlación de rangos de Spearman; q, valor de p estimado utilizando una correlación de Spearman y ajustado por tasa de falso descubrimiento (FDR) utilizando la corrección de Benjamin-Hochber. *Los valores significativos se muestran en negrita y cursiva y se definieron como Rho>0,3 y q<0,1. *Abreviaciones*: SASP, fenotipo secretor asociado a senescencia; PCI, puntos de control inmunitario; Rho, coeficiente de correlación de Spearman; q, valor de p corregido.

Anexo VI. Niveles de biomarcadores plasmáticos asociados a ECV.

Niveles de biomarcadores plasmáticos relacionados con a ECV.

	Mediana [RIC]		Análisis univariante			Análisis multivariante		
Biomarcadores	**VIH/SARS**	**VIH**	**AMR**	**p**	**q**	**aAMR**	**p**	**q**
ECV								
Troponina I	22,25[19,875-26,5]	22[19,75-26,5]	0,90[0,44-1,84]	0,775	0,775	1,18[0,61-2,28]	0,606	0,633
NT-proBNP	35,5[25-51,625]	28[22,5-36,25]	1,25[0,8-1,94]	0,328	0,359	1,71[1,18-2,49]	**0,006**	***0,011****
Cascada de coagulación								
Antitrombina	454,25[432,13-481,38]	379,00[314,25-433,50]	1,22[1,14-1,31]	**≤0,001**	***≤0,001****	1,27[1,18-1,37]	**≤0,001**	***≤0,001****
Protrombina	1988,50[831,00-3481,25]	660,00[411,75-1656,50]	1,52[1,42-1,63]	**≤0,001**	***≤0,001****	1,55[1,44-1,68]	**≤0,001**	***≤0,001****
Factor XI	209,75[176,00-240,25]	146,50[106,00-182,75]	1,59[1,43-1,77]	**≤0,001**	***≤0,001****	1,69[1,51-1,89]	**≤0,001**	***≤0,001****
Factor XII	1260,00[1073,00-1515,75]	996,00[736,50-1362,00]	1,41[1,25-1,58]	**≤0,001**	***≤0,001****	1,53[1,35-1,74]	**≤0,001**	***≤0,001****
Factor XIII	221,50[187,25-239,63]	137,50[121,75-158,75]	1,27[1,11-1,45]	**≤0,001**	***0,002****	1,37[1,18-1,58]	**≤0,001**	***≤0,001****
Factor IX	1074,75[997,25-1186,00]	673,50[527,00-788,25]	1,56[1,39-1,74]	**≤0,001**	***≤0,001****	1,60[1,42-1,82]	**≤0,001**	***≤0,001****
Proteína S	1670,80[1569,80-1813,50]	1249,50[1144,00-1425,80]	1,34[1,07-1,43]	**≤0,001**	***≤0,001****	1,32[1,23-1,42]	**≤0,001**	***≤0,001****
Proteína C	624,75[540,38-714,25]	379,50[309,00-475,25]	1,65[1,49-1,82]	**≤0,001**	***≤0,001****	1,65[1,47-1,85]	**≤0,001**	***≤0,001****
FvW	257,25[199,50-361,75]	217,00[185,50-265,50]	1,24[1,07-1,45]	**0,069**	***0,088****	1,26[1,05-1,50]	**0,011**	***0,018****
Dímero D	2620,75[1513,63-4469,34]	2269,50[1453,50-2902,00]	1,36[1,06-1,74]	**0,016**	***0,026****	1,49[1,13-1,97]	**0,006**	***0,011****

Notas. *Estadísticas*: Los valores se expresan como la mediana de niveles los niveles de fluorescencia cruda de biomarcadores plasmáticos relacionados a ECV [RIC]. Las estimas se obtuvieron como el ratio de la media aritmética (AMR) que se ajustó por sexo y origen étnico (aAMR) mediante un modelo MLG. El p valor (p) se corrigió (q) por tasa de falso descubrimiento (FDR). *Se definieron como valores significativos aquellos con aAMR≥1,2 o ≤0,8 y q<0,1. *Abreviaciones*: ECV, enfermedad cardiovascular; RIC, rango intercuartílico; AMR, ratio de la media aritmética; aAMR, ratio de la media aritmética ajustada; p, valor de p; q, valor de p corregido.

Niveles de biomarcadores plasmáticos relacionados con biomarcadores inflamatorios asociadas a ECV.

	Mediana [RIC]		Análisis univariante			Análisis multivariante		
Biomarcadores	**VIH/SARS**	**VIH**	**AMR**	**p**	**q**	**aAMR**	**p**	**q**
IL-1β	12,00[10,38-16,00]	10,00[9,00-12,00]	1,20[1,02-1,47]	**0,033**	***0,047****	1,19[0,96-1,47]	0,109	0,139
I-L6	23,80[19,38-33,25]	27,00[22,00-32,00]	1,05[0,84-1,31]	0,685	0,717	1,00[0,78-1,28]	0,983	0,983
IL-18	37,80[27,75-97,38]	27,50[22,00-41,62]	1,29[0,78-2,13]	0,319	0,350	1,17[0,67-2,06]	0,575	0,630
TNF-α	15,00[11,00-24,00]	11,50[10,00-15,00]	1,31[0,99-1,77]	**0,065**	***0,088****	1,24[0,92-1,69]	0,158	0,191
TNF-β	21,00[15,75-29,25]	18,50[15,50-22,00]	1,40[1,10-1,77]	**0,007**	***0,012****	1,36[1,03-1,80]	**0,028**	***0,043****
IFN-γ	29,00[19,88-71,75]	22,00[17,00-39,00]	1,34[0,88-2,06]	0,174	0,200	1,27[0,76-2,11]	0,343	0,394
IL-17A	14,50[11,88-19,00]	13,00[11,00-15,00]	1,38[1,16-1,63]	**≤0,001**	***≤0,001****	1,30[1,06-1,59]	**0,010**	***0,018****
MCP-1	168,75[98,25-254,50]	267,00[211,50-364,00]	0,73[0,56-0,95]	**0,019**	***0,030****	0,74[0,54-1,01]	**0,058**	***0,083****
IL-8	42,25[32,62-75,25]	37,50[29,00-45,00]	1,45[1,19-1,77]	**≤0,001**	***≤0,001****	1,41[1,13-1,76]	**0,003**	***0,007****
Proteína C reactiva	116,25[103,75-126,63]	69,00[57,25-93,50]	1,97[1,36-2,85]	**≤0,001**	***≤0,001****	2,12[1,38-3,29]	**≤0,001**	***0,002****
Ferritina	900,50[572,5-1226,88]	433,00[260,0-859,0]	1,54[1,18-2,01]	**0,002**	***0,004****	1,40[1,04-1,87]	**0,027**	***0,043****

Notas. *Estadísticas*: Los valores se expresan como la mediana de niveles los niveles de fluorescencia cruda de biomarcadores plasmáticos relacionados con biomarcadores inflamatorios asociados ECV [RIC]. Las estimas se obtuvieron como el ratio de la media aritmética (AMR) que se ajustó por sexo y origen étnico (aAMR) mediante un modelo MLG. El p valor (p) se corrigió (q) por tasa de falso descubrimiento (FDR). *Se definieron como valores significativos aquellos con aAMR≥1,2 o ≤0,8 y q<0,1. *Abreviaciones*: ECV, enfermedad cardiovascular; RIC, rango intercuartílico; AMR, ratio de la media aritmética; aAMR, ratio de la media aritmética ajustada; p, valor de p; q, valor de p corregido.

Anexo VII. Características epidemiológicas y clínicas de la subpoblación de estudio.

Características epidemiológicas y clínicas de la subpoblación de estudio.

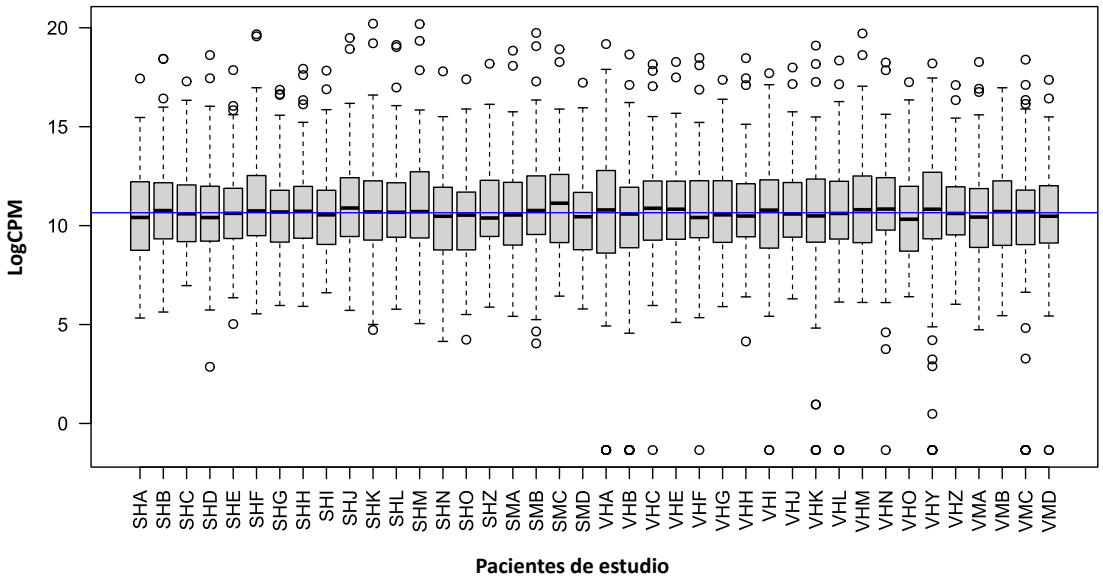
	Total (n=40)	**VIH/SARS** (n=20)	**VIH** (n=20)	**p**
Sexo (masculino)	32 (80,0%)	16 (80,0%)	16 (80,0%)	1,000
Edad (años)	44,0 [37,86-26,4]	46,4 [41,0-50,5]	40,0 [35,3-49,3]	
IMC (kg/m^2)	24,9 [23,3-26,7]	25,9 [23.4-27,7]	24,5 [23,4-25,3]	1,000
Origen étnico (Caucásico)	38 (95,0%)	19 (95,0%)	19 (95,0%)	
Infección por VIH				
Tiempo de infección VIH (años)	7,5 [5,0-11,0]	8,5 [6,0-11,0]	7,0 [4,0-11,3]	0,506
Terapia antirretroviral VIH				
2ITAN+II	21 (52,5%)	8 (40,0%)	13 (65,0%)	0,444
2ITAN+IP	5 (12,5%)	3 (15,0%)	2 (10,0%)	
3ITAN	13 (32,5%)	8 (40,0%)	5 (25,0%)	
2ITAN + ITNAN	1 (2,5%)	1 (5,0%)	0 (0,0%)	
Rutas de transmisión VIH				
UDI	1 (2,5%)	1 (5,0%)	0 (0,0%)	1,000
Sexual	30 (75,0%)	17 (85,0%)	13 (65,0%)	
Desconocida	9 (22,5%)	2 (10,0%)	7 (35,0%)	
Infección por SARS-CoV-2+				
Gravedad				
Leve	20 (50%)	20 (100%)	NA	NA
Grave	0 (0%)	0 (0%)	NA	
Parámetros inmunológicos				
Linfocitos T CD4+ (Células/µL)	786 [556-940]	792 [484-935]	774 [569-962]	0,525
% Linfocitos T CD4+	35,0 [31,9-38,3]	34,5 [26,3-39,3]	35.00 [32,55-36,53]	0,757
Linfocitos T CD8+ (Células/µL)	949,5 [645,5-1431,3]	745 [648-1129]	1073 [736-1460]	0,305
% Linfocitos T CD8+	37,9 [33,3-51,0]	34,0 [24,8-44,0]	45,2 [35,8-51,56]	0,078

Ratio CD4+/CD8+	0,9 [0,6-1,2]	103,9 [46,0-142,5]	0,7 [0,7-1,0]	0,526
Parámetros hematológicos				
Plaquetas (Células/µL)	236.500 [211.500-269.500]	238.000 [218.000-256500]	235.000 [207.000-296.500]	0,759
Perfil bioquímico hepático				
AST (UI/L)	25,5 [20,0-32,8]	27,0 [15,5-32,5]	25,0 [21,0-32,5]	0,690
ALT (UI/L)	26,5 [22,0-46,8]	25,0 [18,0-55,5]	28,0 [24,0-33,0]	0,907
AST/ALT	88,0 [68,0-117,8]	77,0 [65,0-104,5]	91,0 [78,0-118,0]	0,322
Perfil metabólico				
Colesterol total (mg/dL)	182,00 [149,00-203,00]	173,50 [145,75-205,75]	183,00 [170,50-194,00]	0,420
HDL (mg/dL)	43,0 [38,0-56,0]	43,0 [39,0-59,8]	47,0 [38,0-54,5]	0,867
TG (mg/dL)	109,0 [84,0-172,0]	100,5 [78,5-157,8]	119,0 [95,0-172,0]	0,370
Glucosa (mg/dL)	89,0 [82,5-94,8]	89,0 [80,0-94,5]	89,0 [87,0-93,5]	0,465
Creatinina (mg/dL)	182,0 [149,0-203,0]	173,5 [145,8, 205,8]	183,0 [170,5-194,0]	0,420

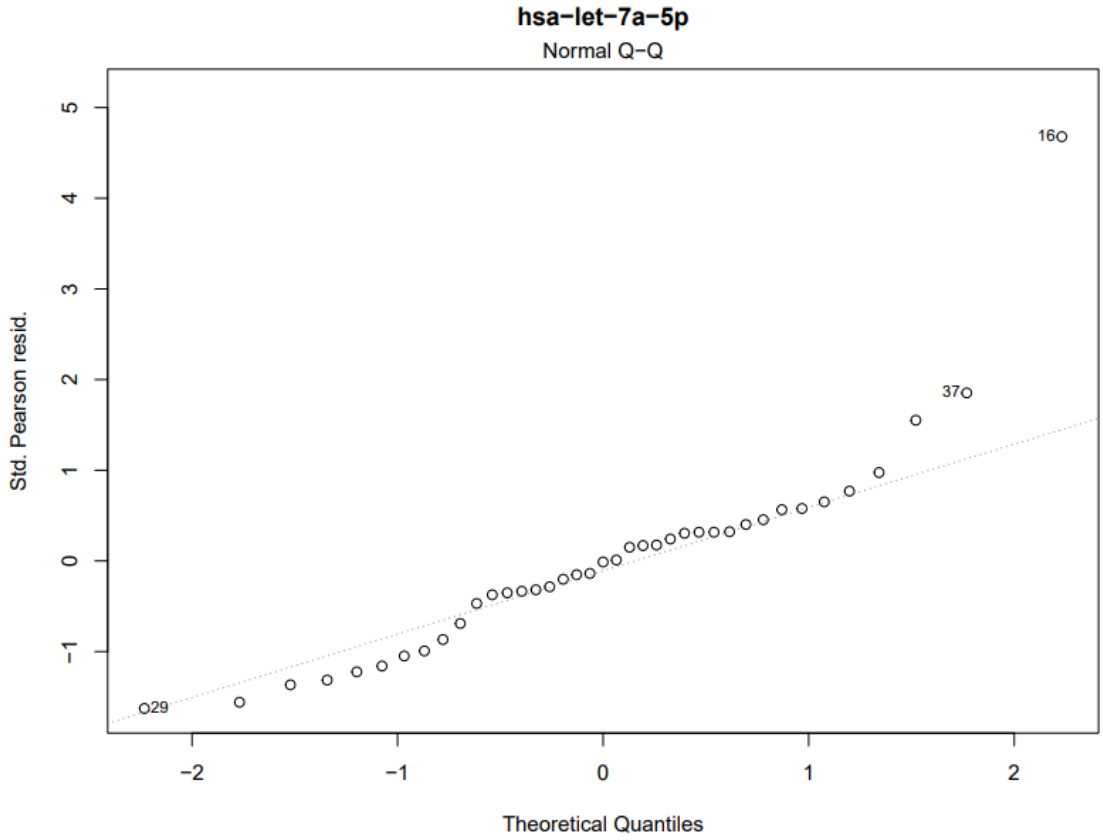
Notas. *Estadística:* los valores se expresan como la mediana [RIC] y el recuento absoluto (porcentaje), Los p valores fueron estimados mediante la prueba de Chi-cuadrado para variables categóricas y la prueba de Mann-Whitney para variables continuas. *****Se definieron como valores significativos aquellos con p ≤0,05. *Abreviatura*s: VIH, virus de la inmunodeficiencia humana; IMC, índice de masa corporal; II: inhibidores de la integrasa; IP, inhibidores de la proteasa; ITANs, inhibidores de la transcriptasa inversa de nucleósidos; ITNANs, inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos; UDIs, usuarios de drogas intravenosas; ; µL, microlitros; UI/L, Unidades internacionales por litro; mg/dL, miligramo por decilitro; AST, aspartato aminotransferasa aspartato aminotransferasa; ALT, alanina aminotransferasa; HDL, lipoproteína de alta densidad; TG, triglicéridos; NA, no aplicable.

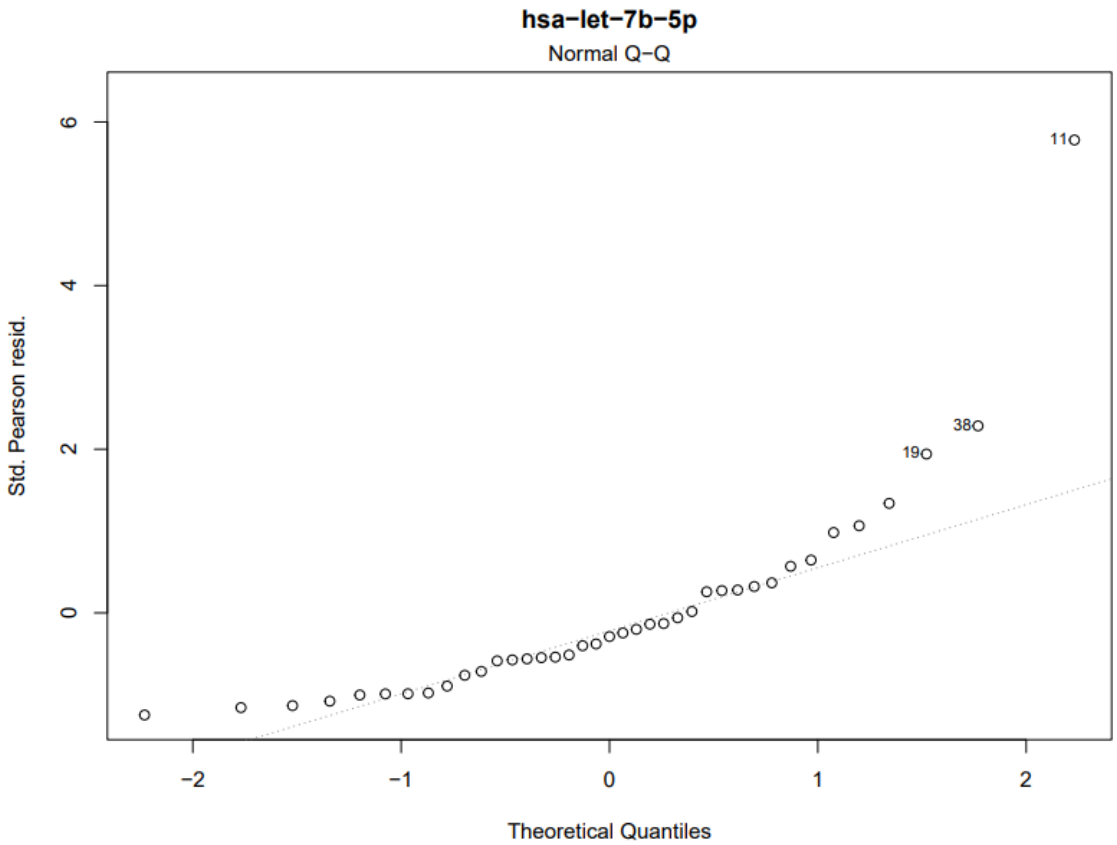
Anexo VIII. Visualización gráfica de la normalización de la matriz de microARNs

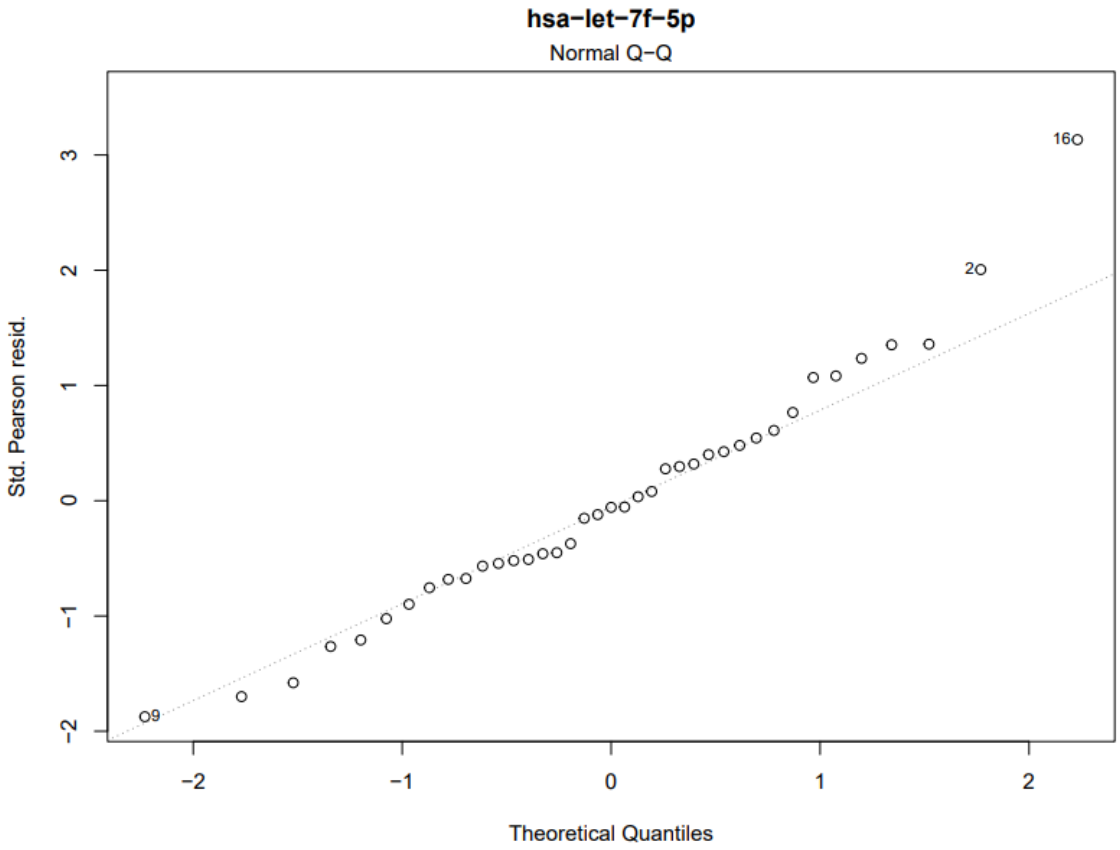
A continuación, se muestran los resultados de la normalización de la matriz de miARNs perteneciente a los grupos de estudio, VIH/SARS y VIH.

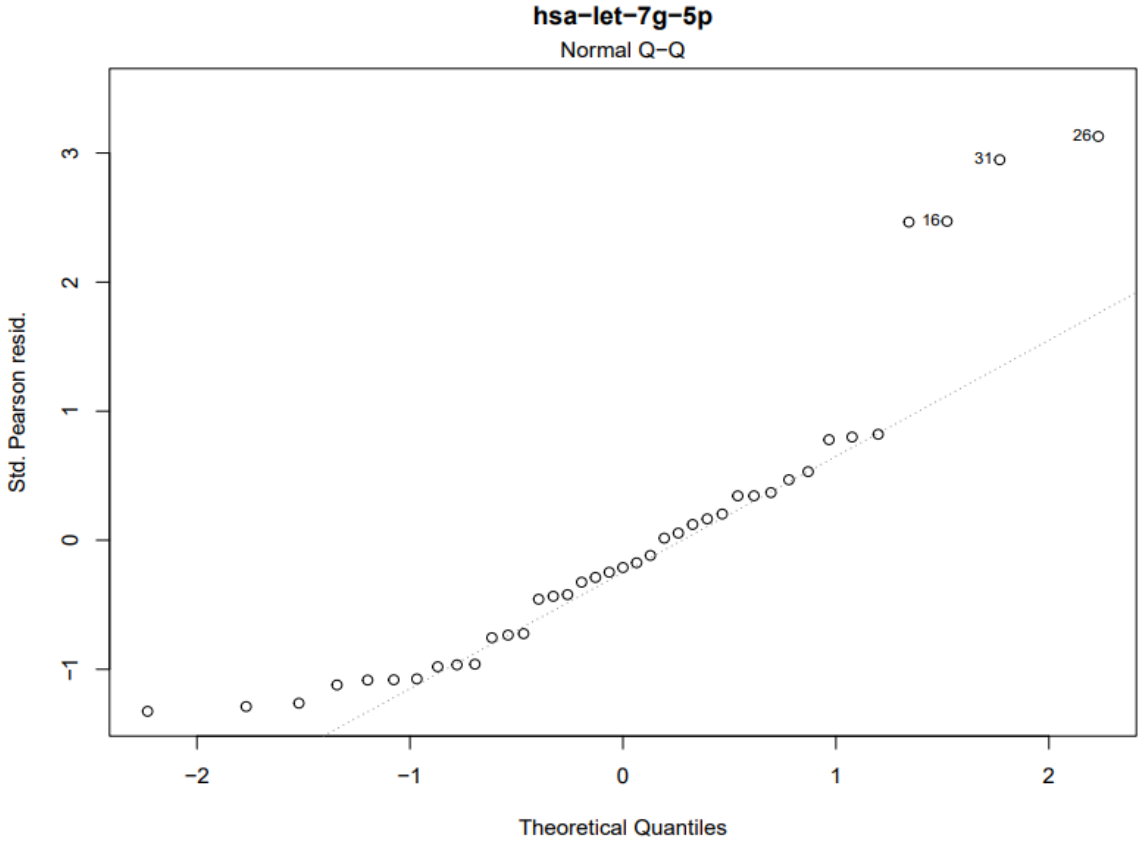


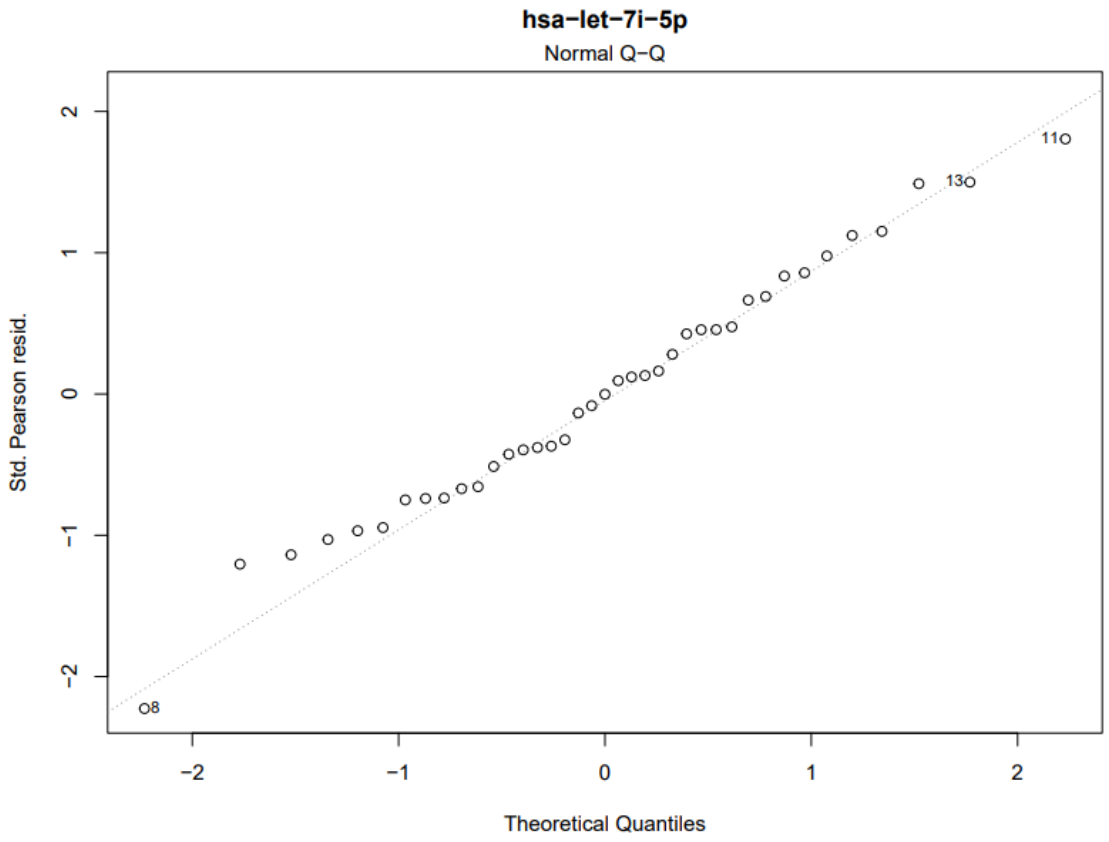
Anexo IX. Validación del Modelo de Análisis de Expresión de microARNs (MLG no ajustado) mediante QQ-Plot

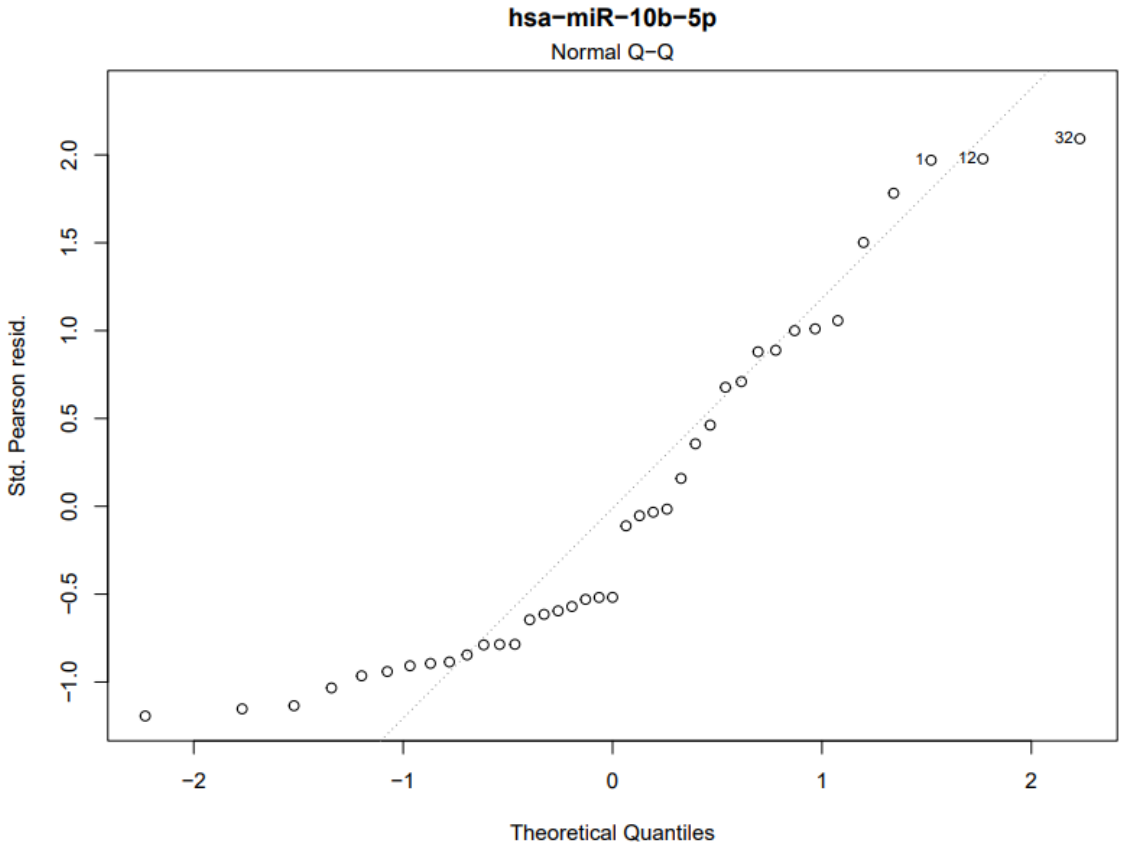

hsa−let−7a−5p
Normal Q−Q
Std. Pearson resid.
Theoretical Quantiles
16
37
29

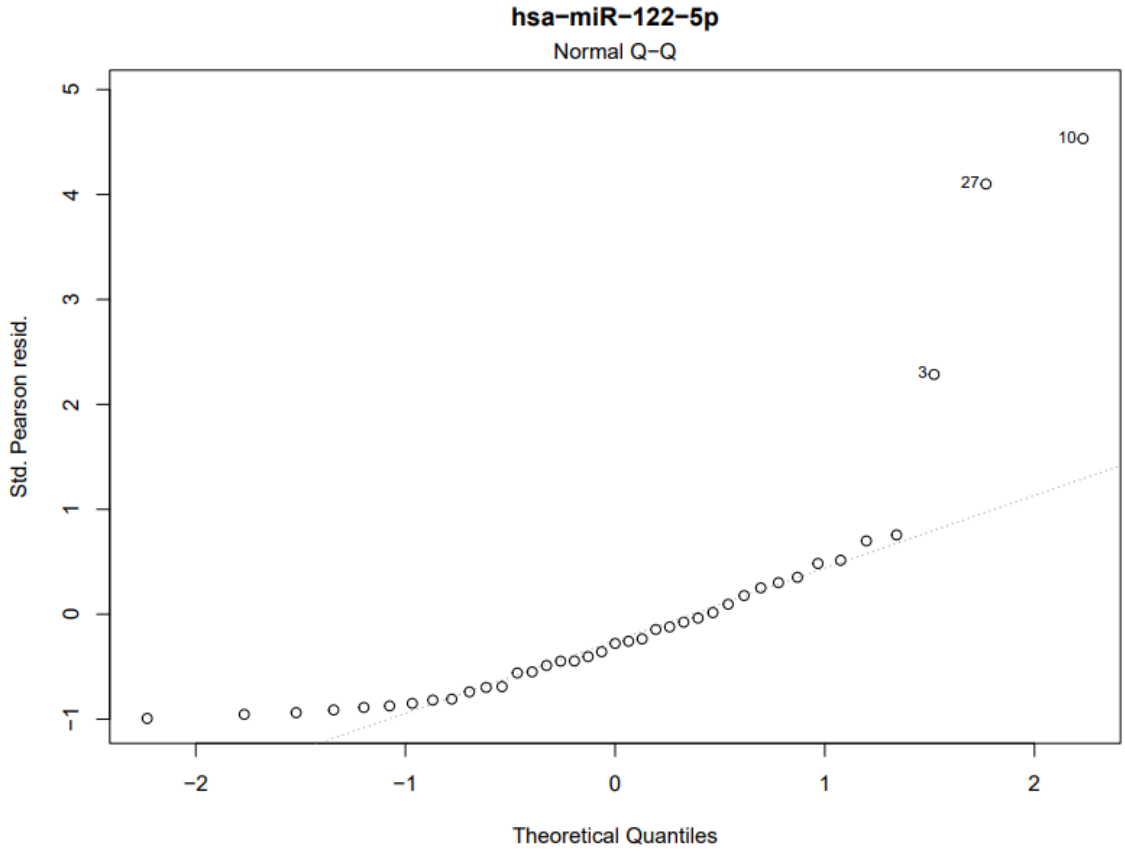

hsa−let−7b−5p
Normal Q−Q
Std. Pearson resid.
Theoretical Quantiles
11
38
19

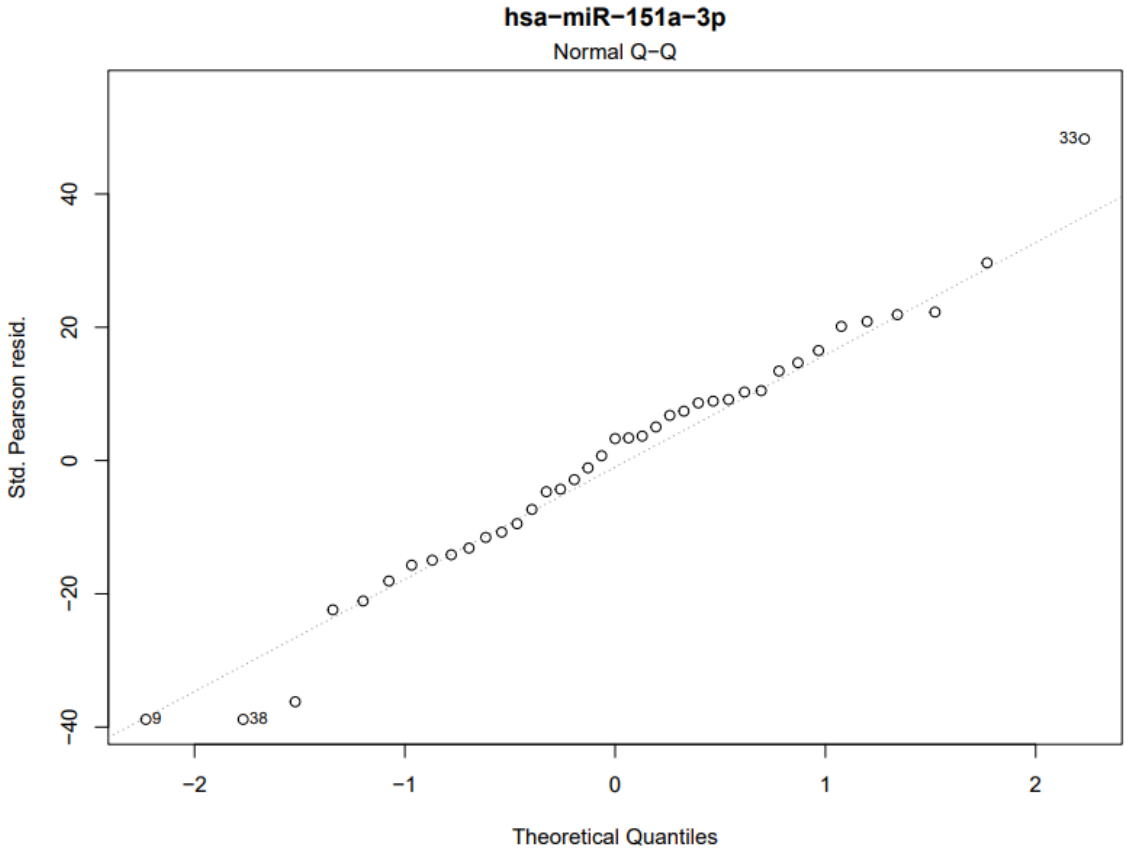

hsa−let−7f−5p
Normal Q−Q
Std. Pearson resid.
Theoretical Quantiles
16
2
9
−2
−1
0
1
2
3

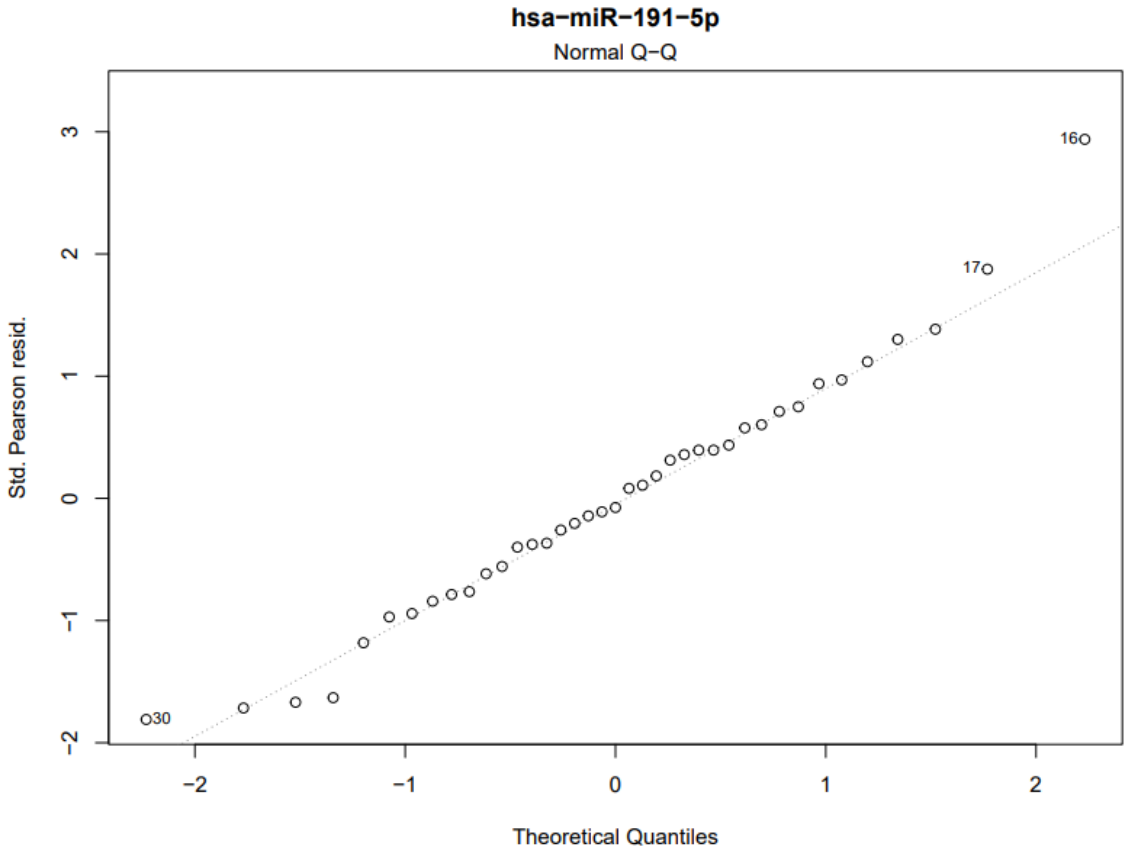

hsa−let−7g−5p
Normal Q−Q
Std. Pearson resid.
Theoretical Quantiles
26
31
16
−2
−1
0
1
2
3

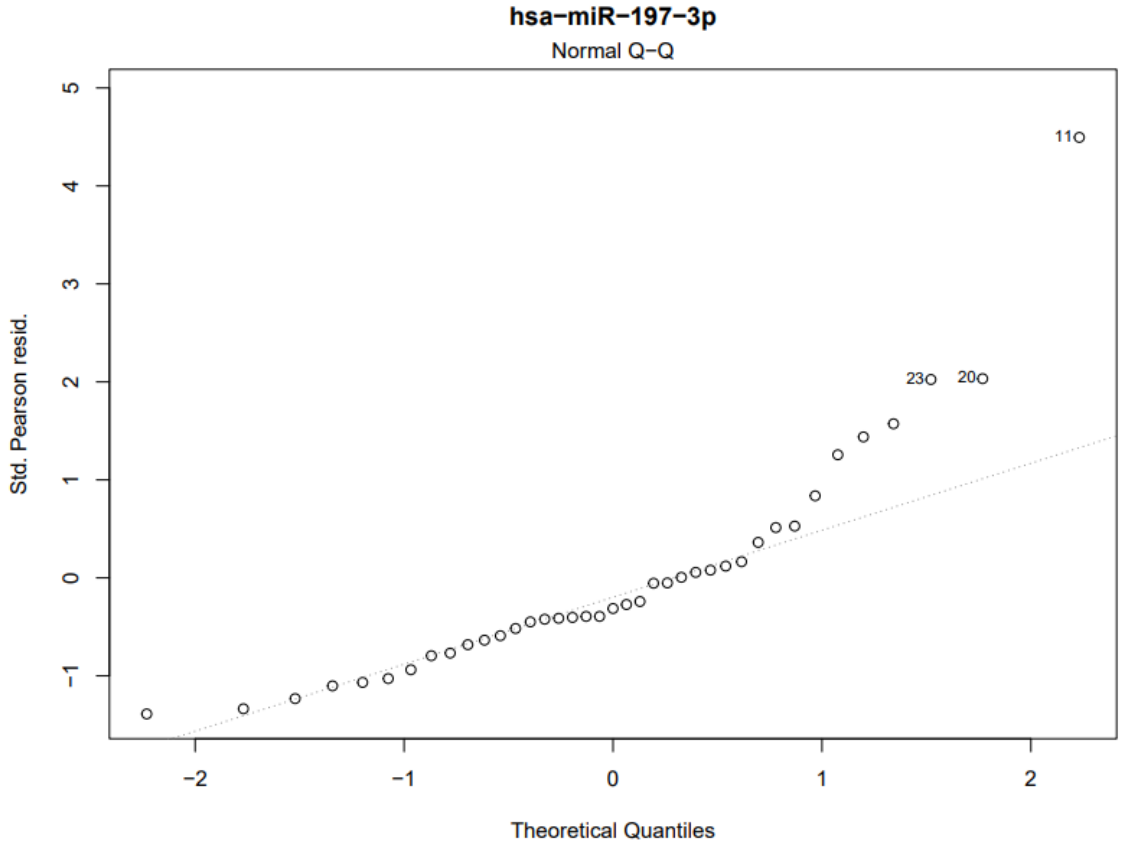

hsa−let−7i−5p
Normal Q−Q
Std. Pearson resid.
Theoretical Quantiles
11
13
8
−2
−1
0
1
2

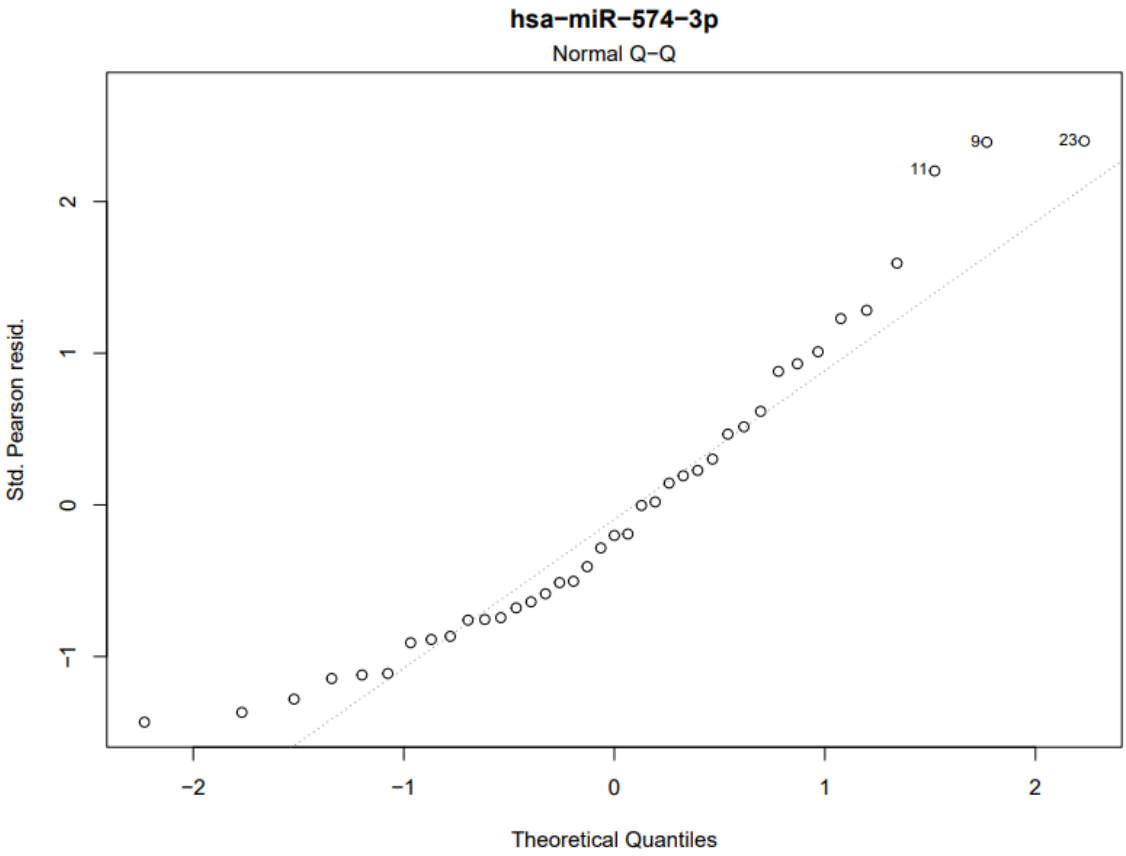

hsa−miR−10b−5p
Normal Q−Q
Std. Pearson resid.
Theoretical Quantiles
32
1
12
−1.0
−0.5
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
−2
−1
0
1
2

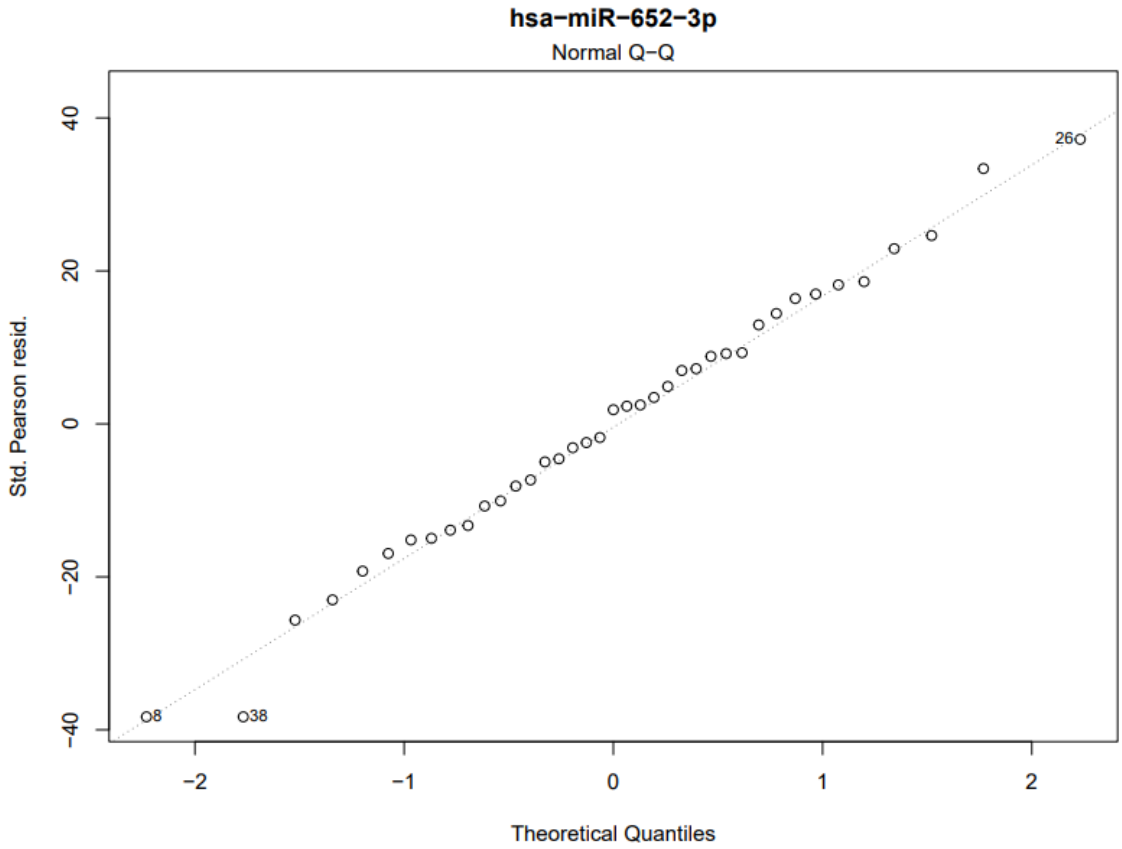

hsa−miR−122−5p
Normal Q−Q
Std. Pearson resid.
Theoretical Quantiles
10
27
3
5
4
3
2
1
0
−1
−2
−1
0
1
2

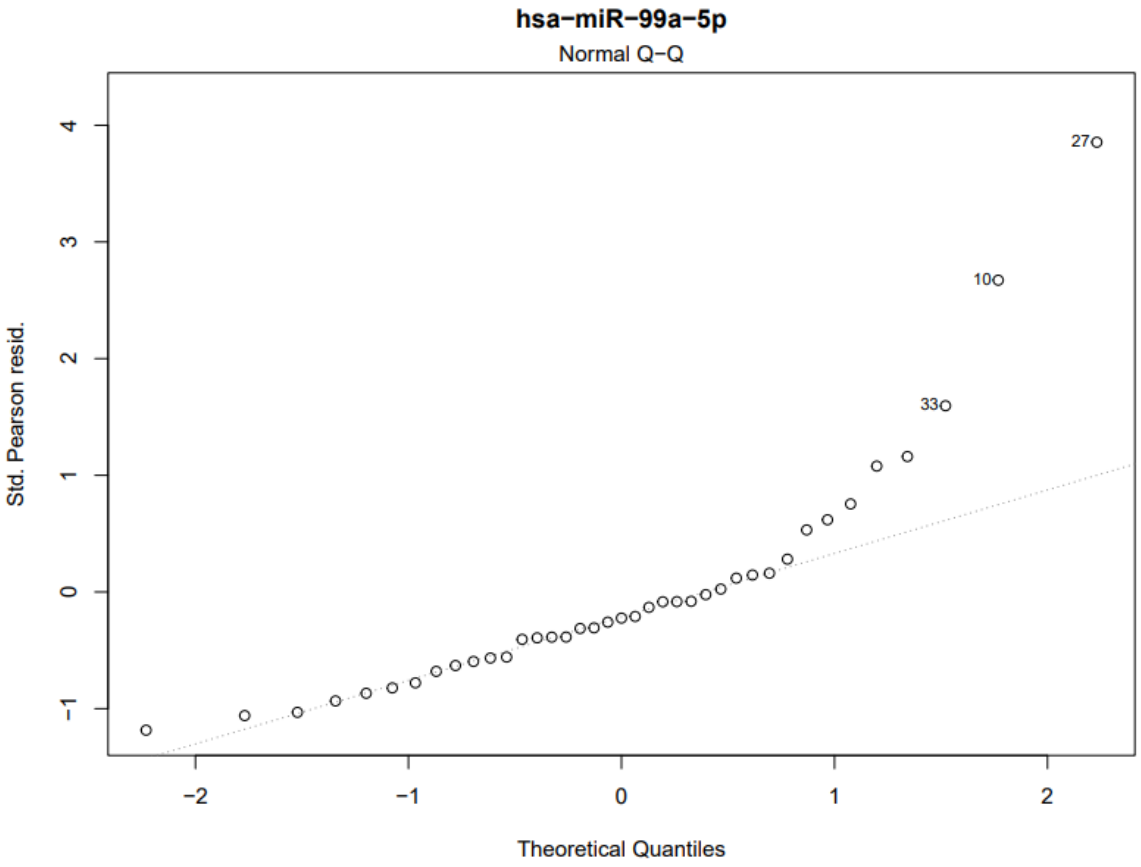

hsa−miR−151a−3p
Normal Q−Q
Std. Pearson resid.
Theoretical Quantiles
33
9
38
40
20
0
−20
−40
−2
−1
0
1
2


hsa−miR−191−5p
Normal Q−Q
Std. Pearson resid.
Theoretical Quantiles
16
17
30
−2
−1
0
1
2
3


hsa−miR−197−3p
Normal Q−Q
Std. Pearson resid.
Theoretical Quantiles
11
23
20
−1
0
1
2
3
4
5


hsa−miR−574−3p
Normal Q−Q
Std. Pearson resid.
Theoretical Quantiles
9
23
11
−2
−1
0
1
2


hsa−miR−652−3p
Normal Q−Q
Std. Pearson resid.
Theoretical Quantiles
26
8
38
−40
−20
0
20
40
−2
−1
0
1
2


hsa−miR−99a−5p
Normal Q−Q
Std. Pearson resid.
Theoretical Quantiles
27
10
33
−1
0
1
2
3
4
−2
−1
0
1
2

9.TABLAS Y FIGURAS

FIGURAS

Figura 1. Estructura esquemática de un virión de VIH.

Figura 2. Representación esquemática de la organización del genoma del VIH-1 mostrando los polipéptidos codificados en los 3 marcos de lectura posibles.

Figura 3. Regulación de la respuesta inmunitaria a través de PCI: interacciones entre células T y células presentadoras de antígenos.

Figura 4. Factores de riesgo para el desarrollo de ECV en PVIH.

Figura 5. Factores de la cascada de coagulación.

Figura 6. Estructura esquemática de un virión de SARS-CoV-2.

Figura 7. Representación esquemática de la organización del genoma del SARS-CoV-2.

Figura 8. Ruta canónica de la biogénesis de miARNs celulares. Adaptado de Lin et al. (2015) (Lin & Gregory, 2015).

Figura 9. Grupos de estudio.

Figura 10: Obtención de plasma en muestras de sangre por centrifugación en gradiente de densidad.

Figura 11: Fundamento de los Inmunoensayos multiplex Procartaplex

Figura 12. Subpoblación de estudio para el análisis de miARNs.

Figura 13. Pasos de preparación de bibliotecas de secuenciación mediante el kit "NEXTflex™ Small RNA Sequencing Kit v4 with UDIs".

Figura 14. Archivo FASTQ de una secuencia de miARN.

Figura 15. Impacto a medio plazo de la infección por SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos relacionados con inflamación y envejecimiento prematuro**.**

Figura 16. Impacto a medio plazo de la infección por SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos relacionados con el riesgo de desarrollo de cáncer**.**

Figura 17. Relación entre los biomarcadores plasmáticos asociados a inflamación, envejecimiento prematuro y cáncer significativos en el grupo VIH/SARS.

Figura 18. Impacto a medio plazo de la infección por SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos relacionados el desarrollo de ECV.

Figura 19. Impacto a medio plazo de la infección por SARS-CoV-2 en los componentes de la cascada de coagulación.

Figura 20. Impacto a medio plazo de la infección por SARS-CoV-2 en biomarcadores plasmáticos relacionados con ECV.

Figura 21. Análisis PLS-DA del perfil de expresión de miRNAs entre los grupos VIH/SARS y VIH.

Figura 22. Impacto a medio plazo del SARS-CoV-2 en la expresión diferencial de miARNs en el plasma de PVIH.

Figura 23. Análisis funcional de los miARNs significativamente desregulados en PVIH tras una mediana de 11 [RIC, 8-13] semanas desde el diagnóstico de SARS-CoV-2 mediante PCR+.

TABLAS

Tabla 1. Citoquinas inflamatorias –Biomarcadores asociados a inflamación crónica

Tabla 2. Citoquinas inflamatorias SASP –Biomarcadores asociados a envejecimiento prematuro

Tabla 3. Proteínas relacionadas con PCI – Biomarcadores asociados a riesgo de desarrollo de cáncer.

Tabla 4. Biomarcadores inflamatorios asociados a ECV.

Tabla 5. Características epidemiológicas y clínicas de la población de estudio.

Tabla 6. Variables hematológicas de la población de estudio.

Tabla 7. Parámetros bioquímicos y metabólicos de la población de estudio.

Tabla 8. Identificación de miARNs con expresión diferencial en PVIH tras la infección por SARS-CoV-2.