TRABAJO FIN DE GRADO MEDICINA

SECUENCIACIÓN MASIVA DE ARN EN SEPSIS CON SÍNDROME DE DISTRES RESPIRATORIO AGUDO

Nombre del Alumno: María Matute Humanes

Nombre del Tutor Clínico: José Ángel Lorente Balanza

Servicio del Tutor: Medicina Intensiva

Nombre del Tutor Metodológico: Rocío Queipo Matas

Hospital: Hospital universitario de Getafe

A mis padres, siempre.

Índice

1. RESUMEN Y PALABRAS CLAVE 1
2. INTRODUCCIÓN 3
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS 6
4. METODOLOGÍA 6
4.1. DISEÑO 6
4.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO 7
4.3. TAMAÑO MUESTRAL 8
4.4. VARIABLES 8
4.5. RECOGIDA DE DATOS 11
4.6. ANÁLISIS ESTADISTICOS 11
4.7. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES 12
5. RESULTADOS 13
6. DISCUSIÓN 23
7. CONCLUSIONES 27
8. BIBLIOGRAFÍA 29
9. ANEXOS 34

1. RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

Resumen

Introducción y objetivo principal: una de la complicaciones más frecuentes y graves de la sepsis es el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA). Su diagnóstico precoz es fundamental para la reducción de la mortalidad. Por ello en este estudio hemos analizado mediante técnicas de secuenciación masiva la existencia de una huella genética de microARN que puedan ser clave en su futuro diagnóstico y tratamiento.

Método: se realizó un estudio observacional analítico retrospectivo de casos y controles, donde se incluyeron veinte pacientes con sepsis: siete casos con SDRA y trece controles que no lo desarrollaron. Se evaluó la expresión 472 microARN el día posterior al ingreso. El análisis estadístico evaluó la expresión diferencial y correlacionó los niveles genéticos con la presencia de SDRA y la gravedad de la disfunción orgánica y pulmonar.

Resultados: de los 472 MicroARN analizados 18 mostraron asociación con en SDRA, mostrando todos ellos una disminución de su expresión, siendo especialmente relevantes moléculas como hsa-miR-145-5p y hsa-miR-10b-5p que mostraron una gran magnitud de cambio. Asimismo, se descubrieron correlaciones relevantes entre microARNs y el fallo orgánico sistémico, así como con el deterioro de la función pulmonar. Cabe destacar que los microARN que señalaron la presencia de SDRA fueron distintos de los asociados a la gravedad de la sepsis y la disfunción pulmonar.

Conclusión: existe un patrón de expresión diferencial que sugiere una huella molecular característica para el síndrome de distrés respiratorio agudo. Debido al reducido tamaño muestral ninguno de los MicroARN mantuvo significación tras la corrección por comparaciones múltiples, pero esto es esperable en un estudio de carácter ómico y exploratorio como el presente. No obstante, nuestro estudio postula hallazgos prometedores que requieren validación en estudios más amplios.

Palabras clave: secuenciación masiva, microARN, SDRA, sepsis

Abstract

Introduction and Main Objective: One of the most common and serious complications of sepsis is acute respiratory distress syndrome (ARDS). Early diagnosis is essential for reducing mortality. Therefore, in this study, we used high-throughput sequencing techniques to analyze the presence of a microRNA genetic signature that could be key to its diagnosis and future treatments.

Method: A retrospective observational case-control study was conducted, including twenty patients with sepsis: seven cases with ARDS and thirteen controls who did not develop it. The expression of 472 microRNAs was assessed the day after admission. Statistical analysis evaluated differential expression and correlated gene levels with the presence of ARDS and the severity of organ and pulmonary dysfunction.

Results: Of the 472 microRNAs analyzed, 18 showed an association with ARDS, all of which exhibited decreased expression, with molecules such as hsa-miR-145-5p and hsa-miR-10b-5p being particularly relevant as they demonstrated a significant magnitude of change. Furthermore, significant correlations were found between microRNAs and systemic organ failure, as well as with the deterioration of lung function. It is worth noting that the microRNAs indicating the presence of ARDS were distinct from those associated with the severity of sepsis and pulmonary dysfunction.

Conclusion: There is a pattern of differential expression that suggests a characteristic molecular signature for acute respiratory distress syndrome. Due to the small sample size, none of the microRNAs remained statistically significant after correction for multiple comparisons; however, this is to be expected in an exploratory omics study such as this one. Nevertheless, our study presents promising findings that require validation in larger studies.

Keywords: next-generation sequencing, miRNA, ARDS, sepsis

2. INTRODUCCIÓN

La sepsis se define como una disfunción orgánica potencialmente mortal causada por una respuesta descontrolada del huésped a la infección (1,2). Tiene una alta mortalidad, rondando el 30% - 50% (3), siendo la principal causa de muerte en las unidades de cuidados intensivos (UCI) (4), en la que afecta al 20-30% de los pacientes ingresados (5). La etiología más frecuente de sepsis es la respiratoria, suponiendo un 50% de los casos (6,7). Con una prevalencia de hasta el 25% en los pacientes con sepsis una de sus complicaciones más frecuentes es el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA)(8).

El SDRA se define por los criterios de Berlín (9): inicio de la patología la primera semana tras un insulto clínico conocido o empeoramiento de la clínica respiratoria ya presente; opacidades bilaterales en prueba de imagen; edema pulmonar no explicado por insuficiencia cardiaca o sobrecarga de volumen y alteración del PaO2/FiO2con un PEEP >5cmH2O y se asocia a enfermedades que asocian tormentas inflamatorias como son la neumonía y la sepsis (10) siendo una de las complicaciones más frecuentes, graves y tempranas de esta última, asociando una alta tasa de mortalidad (30-40%) (5).

Además, los pacientes con SDRA asociado a sepsis tienen una mortalidad mayor a aquellos con SDRA de otros orígenes. Por tanto, la identificación temprana tanto de la sepsis como del SDRA y su tratamiento precoz es esencial de cara a reducir la mortalidad y minimizar los costes médicos (5). Esenciales en el diagnóstico precoz de la sepsis y el SDRA podrían ser recursos como la secuenciación masiva (11).

La implementación de tecnologías de secuenciación masiva están siendo un hito no solo en el diagnóstico y la epidemiología de enfermedades infecciosas (11), sino como recurso para predecir el pronóstico (10,12,13) y la mortalidad (13,14). Algunos estudios señalan incluso su potencial terapéutico (15,16).

Se trata de una técnica compleja que permite analizar las secuencias genéticas de organismos vivos mediante la secuenciación del ARN. Para ello se toma ARN y se convierte en ADN complementario (ADN c) que puede ser o no amplificado por PCR,

este ADNc se fragmenta y se usan sus fragmentos para la biblioteca de secuenciación que usamos como referencia. Es decir, se cuenta con una secuencia de referencia que es conocida y que usamos para compararla con nuestras muestras obteniendo así un mapeo de nuestra muestra (17).

De esta manera obtenemos secuencias de ARN específicas que se convierten en marcadores de sepsis. Son ejemplos de ello el MALAT1 que aporta información sobre la gravedad de la enfermedad, la lesión orgánica, el nivel de inflamación y la mortalidad (13); la N6-metiladenosina que indica disfunción inmunitaria (4); y otros genes como IL7R marcador diagnóstico, CCL5 asociado al pronóstico, CD3G indicador de sepsis neonatal (18)

Debido a la heterogeneidad y complejidad de la sepsis el reconocimiento de temprano de la misma sigue planteando un gran reto, factor que es clave en la mortalidad ya que el inicio temprano de la antibioticoterapia se asocia estrechamente a la supervivencia (1).

Diversos estudios han mostrado también marcadores propios del síndrome de distrés respiratorio agudo en pacientes con sepsis que son marcadores pronósticos como GIMAP4 (18), HOTTIP (8), HOXA-AS2 (14), Inc-SNHG16 (12), CTSO y HLA-DQA1 (10). Estos marcadores junto con sus rutas metabólicas podrían ser esenciales en el futuro del diagnóstico del SDRA y en su manejo como ya hemos comentado en los marcadores propios de la sepsis.

Pese a su prometedora perspectiva la secuenciación masiva es un campo aún por explorar que todavía se encuentra lejos de ser una prueba rutinaria (11).

La sepsis y el síndrome de distrés respiratorio agudo continúan siendo entidades de elevada mortalidad a pesar de los avances diagnósticos y terapéuticos. La identificación precoz de pacientes con mayor riesgo de evolución desfavorable sigue constituyendo uno de los principales retos clínicos, especialmente en el contexto del SDRA asociado a sepsis, donde la mortalidad es superior a la observada en otras etiologías.

Aunque diversos estudios han identificado biomarcadores moleculares relacionados con la sepsis y el SDRA mediante técnicas de secuenciación masiva, los resultados muestran una elevada heterogeneidad y una limitada validación en cohortes clínicas reales. Asimismo, el conocimiento de las rutas metabólicas implicadas en la expresión génica asociada al SDRA continúa siendo incompleto.

Por ello, resulta necesario profundizar en el análisis del perfil de expresión génica y de las rutas biológicas implicadas en pacientes con SDRA, con el fin de identificar posibles biomarcadores que puedan contribuir al diagnóstico precoz y al desarrollo de futuras estrategias terapéuticas personalizadas.

El presente estudio se alinea con el Objetivo de Desarrollo Sostenible 3: Salud y bienestar, cuyo objetivo es garantizar una vida sana y promover el bienestar de la población. La identificación de biomarcadores moleculares para el diagnóstico precoz del síndrome de distrés respiratorio agudo asociado a sepsis puede contribuir a mejorar la detección temprana, optimizar el tratamiento y reducir la mortalidad en pacientes críticos.

El desarrollo de herramientas diagnósticas más precisas y basadas en la biología molecular favorece una atención sanitaria más eficiente y personalizada, contribuyendo a mejorar los resultados clínicos y a reducir la carga asistencial y económica asociada a estas patologías.

Por todo lo anterior, el objetivo del presente estudio es analizar el patrón de expresión génica en pacientes con síndrome de distrés respiratorio agudo mediante técnicas de secuenciación masiva, con el fin de identificar biomarcadores moleculares y rutas metabólicas asociadas al desarrollo y evolución del SDRA, que puedan ser útiles para su diagnóstico precoz y para el desarrollo de futuras estrategias terapéuticas.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis

Los pacientes con SDRA presentan un patrón de expresión de genes característico identificable mediante secuenciación masiva que puede resultar de utilidad para su diagnóstico precoz y para el desarrollo de futuras estrategias terapéuticas.

Objetivo principal

Analizar el patrón de expresión génica en pacientes con síndrome de distrés respiratorio agudo mediante técnicas de secuenciación masiva, con el fin de identificar biomarcadores moleculares asociadas al desarrollo y evolución del SDRA, que puedan ser útiles para su diagnóstico precoz y para el desarrollo de futuras estrategias terapéuticas

Objetivos secundarios

1. Relacionar la expresión de microARN con la disfunción de órganos
2. Relacionar la expresión de microARN con la disfunción pulmonar.
3. Describir el perfil sociodemográfico de los pacientes (sexo, edad) y cuál es el foco de la sepsis.

4. METODOLOGÍA

4.1. DISEÑO

El presente estudio corresponde a la fase de descubrimiento de genes expresados diferencialmente en el SDRA, para ello se estudiaron pacientes con el factor de riesgo más común del SDRA, la sepsis, y se clasificaron en dos grupos: enfermos que desarrollan SDRA y que no.

Se trata por tanto de un estudio de casos y controles en el que tenemos dos poblaciones pareadas en edad y sexo, la primera formada por las pacientes con sepsis y SDRA y la segunda formada por pacientes con sepsis sin SDRA.

- Intervención: observacional
- Seguimiento: transversal
- Finalidad: analítico
- Temporalidad: retrospectivo

* La variable expresión de microARN se recogió el día 1. Definiéndose el día 1 como las 8 de la mañana del día siguiente al ingreso.

** Variables usadas para calcular el SOFA (19) y PaO2/FiO2. Se recogieron de una muestra y espirometría en las primeras 24 horas de ingreso.

4.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Pacientes con sepsis ingresados en la UCI del Hospital Universitario de Getafe desde diciembre 2024 hasta diciembre de 2025.

Para la elección de los casos y los controles se eligieron los primeros pacientes que en ese periodo de tiempo cumplían criterios de inclusión para cada grupo. Es decir, para los casos seleccionamos los 7 primeros pacientes con sepsis y SDRA y para los controles los 13 primeros pacientes con sepsis que ingresaron en UCI en ese periodo de tiempo, teniendo en cuenta que estuvieran pareados en edad y sexo.

a. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Enfermos con sepsis de acuerdo con la definición de sepsis 3 (disfunción de órganos de 2 puntos o más en el SOFA)
- Pacientes ingresados en la UCI del Hospital Universitario de Getafe desde diciembre de 2024 hasta diciembre de 2025

b. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Enfermos moribundos (cuya muerte se prevé en 72h)
- Enfermos con insuficiencia renal que requiera diálisis
- Enfermos con cáncer en tratamiento
- Enfermos inmunodeprimidos
- Enfermos con insuficiencia hepática aguda

4.3. TAMAÑO MUESTRAL

Se usó la calculadora de tamaño muestral GRANMO aceptando un riesgo alfa de 0,05 y un poder estadístico superior a 0,8 en un contraste bilateral se precisan **165** casos y **165** controles, para detectar una Odds Ratio mínima de 2. Se asume que la tasa de expuestos en el grupo control será del 0,256 (8,14).

Puesto que el presente estudio se trata de fase de descubrimiento, que hemos estudiado 472 microARN y que el coste de la secuenciación masiva es muy elevado el número de enfermos del que dispusimos es muy pequeño siendo 7 en casos y 13 en controles. La fase de descubrimiento de nuestro estudio será continuada por una fase de validación que contará con más pacientes y no forma parte del presente TFG.

Además, hemos de tener en cuenta que el tamaño muestral ha sido calculado respecto a la expresión de genes concretos en la secuenciación masiva con estudios en fase de validación, no de descubrimiento ya que dichos estudios no existen.

4.4. VARIABLES

Variables cualitativas:

- **Diagnóstico de SDRA (Variable principal):** Sí, No.
- **Sexo del donante:** Hombre, Mujer.
- **Origen de la infección:** Respiratorio, Abdominal y Partes blandas

Variables cuantitativas:

- **Expresión de MicroARN (Variable principal):** medida como variable cuantitativa continua en Log2(Counts Per Million +1).

  Nota: Se ha recogido la expresión normalizada de 472 microARN el día 1 (a las 8 de la mañana del día siguiente al ingreso).

  Nota 2: En el curso del TFG y desde el punto de vista estadístico cada uno de los 472 microARN que obtenidos con la secuenciación masiva se han tratado como una variable cuantitativa continúa analizándose de forma independiente dentro de un análisis ómico exploratorio que se ha detallado en el apartado "análisis estadístico" del presente TFG.

- **Disfunción pulmonar:** medida como variable cuantitativa continua como coeficiente de presión arterial de oxígeno y fracción inspirada de oxígeno (PaO2/FiO2) en mmHg.

  Nota: la gasometría para calcular la disfunción pulmonar se realizó en las primeras 24 horas de ingreso.

- **Estancia en el hospital:** medida como variable discreta en días cumplidos.

- **Edad del donante:** medida como variable discreta en años cumplidos.

Variables Medidas con Cuestionarios y Escalas

Variable: Disfunción Orgánica

- **Instrumento de medida:** Puntuación SOFA (Sequential Organ Failure Assessment).

- **Descripción del instrumento:**

  - **Dimensiones evaluadas:** SOFA evalúa el fallo de 6 sistemas orgánicos: Respiratorio, Coagulación, Hepático, Cardiovascular, Sistema Nervioso Central (mediante la escala de coma de Glasgow) y Renal.

- **Puntuación:** cada uno de los 6 sistemas recibe una puntuación que va de 0 a 4 puntos. La puntuación total puede variar de 0 a 24 puntos. A mayor puntuación, peor es la disfunción orgánica del paciente.
- **Puntos de corte:** una disfunción de órganos de 2 puntos o más en la escala SOFA define la presencia de sepsis según los criterios Sepsis-3.
- **Momento de medición:** las muestras necesarias para calcular el SOFA se recogieron en las primeras 24 horas de ingreso.

Table 1 Original Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score [2]

Score	0	1	2	3	4
Respiratory					
PaO_2/FiO_2, mmHg	> 400	≤ 400	≤ 300	≤ 200 —with respiratory support—	≤ 100
Coagulation					
Platelets × $10^3/mm^3$	> 150	≤ 150	≤ 100	≤ 50	≤ 20
Liver					
Bilirubin, mg/dL (μmol/L)	< 1.2 (< 20)	1.2–1.9 (20–32)	2.0–5.9 (33–101)	6.0–11.9 (102–204)	> 12.0 (> 204)
Cardiovascular					
Hypotension	No hypotension	MAP < 70 mmHg	Dopamine ≤ 5 or dobutamine (any dose)*	Dopamine > 5 or epinephrine ≤ 0.1 or norepinephrine ≤ 0.1*	Dopamine > 15 or epinephrine > 0.1 or norepinephrine > 0.1*
Central nervous system					
Glasgow Coma Scale	15	13–14	10–12	6–9	< 6
Renal					
Creatinine, mg/dL (μmol/L)	< 1.2 (< 110)	1.2–1.9 (110–170)	2.0–3.4 (171–299)	3.5–4.9 (300–440)	> 5.0 (> 440)
OR urine output				< 500 ml/d	< 200 ml/d

* Adrenergic agents administered for at least one hour (doses given are in mcg/kg/min)

Tabla 1: del artículo The Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score: has the time come for an update (19).

Variable: Diagnóstico del SDRA

- **Instrumento de medida:** Criterios de Berlín.
- **Descripción del instrumento:**
  - **Dimensiones evaluadas:** Inicio de la patología, opacidades bilaterales en prueba de imagen, edema pulmonar no explicado por fallo cardíaco y alteración del cociente PaO2/FiO2 con un PEEP >5cmH2O.

4.5. RECOGIDA DE DATOS

Los datos fueron obtenidos por la estudiante a partir de la base de secuenciación masiva en sepsis del Hospital Universitario de Getafe, bajo la supervisión directa del tutor clínico. Para garantizar la confidencialidad y el cumplimiento de la normativa vigente, se implementó un proceso de **seudonimización** mediante la creación de dos bases de datos vinculadas únicamente por un código de asignación:

- **Base de datos 1:** contenía el código de asignación junto con los datos identificativos del donante. Esta base fue custodiada exclusivamente por el tutor clínico.

- **Base de datos 2:** incluía únicamente el código de asignación y los datos clínicos necesarios para el desarrollo del trabajo fin de grado. Esta fue la base utilizada por la estudiante para el análisis estadístico.

La base de datos se almacenó en la **unidad Z** del sistema informático del hospital, bajo los controles de seguridad establecidos por el centro. No se permitió su transferencia ni almacenamiento en dispositivos móviles externos.

El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete limma en R, y el tratamiento de los datos se llevó a cabo conforme a la legislación de la Unión Europea en materia de protección de datos personales, incluyendo el Reglamento (UE) 2016/679 (RGPD) y la Ley Orgánica 3/2018, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Estadística analítica

Para analizar la expresión de microARN en pacientes sépticos con SDRA vs sépticos sin SDRA se usó la expresión normalizada y transformada en log de cada micro ARN que hemos analizado mediante modelos lineales utilizando el paquete limma en R. Es decir, para cada microARN se ajustó un modelo lineal en función del grupo clínico aplicándose un T-test moderado. Se obtienen así valores de p que se corrigieron

mediante Benjamini-Hochberg (FDR) de manera que obtuvimos un p ajustado que se consideró significativo si p<0,05. La magnitud del efecto se ha expresado en log2 fold change.

Para relacionar la expresión de microRNA con la disfunción de órganos se usó la correlación de Spearman que nos da una ρ (rho de Spearman) que se usó para medir la fuerza y la dirección de la asociación y un p-valor que se ajustó con FDR considerándose significativa la p ajustada <0,05.

Para relacionar la expresión de microARN con la disfunción pulmonar se usó la correlación de Spearman que nos da una ρ (rho de Spearman) que se usó para medir la fuerza y la dirección de la asociación y un p-valor que se ajusta con FDR considerándose significativa la p ajustada <0,05

Estadística descriptiva

Para describir el perfil sociodemográfico de los pacientes (sexo, edad) y cuál es el foco de la sepsis se realizó estadística descriptiva donde las variables cualitativas (sexo, origen de la infección) se han presentado mediante frecuencias absolutas y relativas (%), con intervalos de confianza al 95% y las variables cuantitativas (edad, estancia hospitalaria, disfunción pulmonar y disfunción orgánica) se han descrito mediante media y desviación estándar o mediana y rango intercuartílico, según la distribución. La normalidad se ha evaluado mediante test de Shapiro-Wilk o Kolmogorov-Smirnov, complementado con métodos gráficos.

Software

El análisis estadístico se realizó con el paquete limma en el programa R.

4.7. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

El proyecto se ha realizado respetando las normativas en materia de bioética según la declaración de Helsinki, el informe de Belmont, el convenio de Oviedo sobre los

derechos humanos la biomedicina y la ley 14/2007, de 3 de julio, de investigación biomédica.

El proyecto se ha llevado a cabo conforme a la legislación de la UE sobre datos personales, en concreto la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales, el Real decreto 1720/2007, la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica.

Este proyecto de investigación ha sido aprobado por el Comité de Ética del hospital de Getafe siguiendo la normativa vigente. La resolución de aprobación se adjunta como anexo a este documento.

Dado que se trata de un estudio retrospectivo, la información se obtuvo de bases de datos anónimas. Por este motivo, se solicitó una exención del consentimiento informado al Comité de Ética, la cual fue concedida.

El uso de la IA en este trabajo se ha limitado a la resolución de dudas conceptuales y a la mejora y clarificación del texto. Todo el contenido y las ideas reflejadas en este documento son de autoría propia.

5. RESULTADOS

Descripción de la muestra

Para este estudio hemos contado con 20 pacientes, todos con sepsis y de los cuales 7 tenían SDRA. La media de edad de los pacientes ± desviación estándar fue de 71 ± 11,4. Respecto al sexo 11 eran mujeres (55%) y 9 hombres (45%).

La sepsis tuvo 3 orígenes: respiratorio 12 (60%), abdominal 6 (30%) y partes blandas 2 (10%). El SOFA al ingreso fue de media ± desviación estándar de 7,2 ± 4,4 y el PaO2/FiO2 184,7 ± 98,4

Los pacientes estuvieron ingresados una mediana de 12,5 días con RIC 9,3-15,0.

No se encontraron diferencias significativas en estas variables basales al estratificar por la presencia o ausencia de SDRA.

Tabla 1: características sociodemográficas y clínicas de los pacientes secuenciados

Variable	Total (n=20)	Solo sepsis (n=13)	Sepsis y SDRA (n=7)	P - valor
Género, n (%)				
Femenino	11 (55%)	7 (53,8%)	4 (57,1%)	
Masculino	9 (45%)	6 (46,2%)	3 (42,9%)	0,888
Edad, media ± DE	71,0 ± 11,4	70,2 ± 9,2	72,6 ± 15,3	0,691
Origen sepsis, n (%)				
Respiratorio	12 (60%)	7 (53,8%)	5 (71,4%)	
Abdominal	6 (30%)	4 (30,8%)	2 (28,6%)	
Partes blandas	2 (10%)	2 (15,4%)	0 (0,0%)	0,517
Disfunción orgánica (SOFA), media ± DE	7,2 ± 4,4	6,5 ± 4,6	8,3 ± 4,2	0,337
Disfunción pulmonar (PaO2/FiO2), media ± DE	184,7 ± 98,4	173,6 ± 86,3	205,2 ± 122,0	0,776
Días ingreso, mediana [RIC]	12,5 [9,3-15]	14 [7-21]	11 [10-12]	0,532

5.1. Análisis del patrón de expresión génica de microARN en pacientes con síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA)

La tabla 2 recoge los 18 microARNs que mostraron una asociación estadística con la presencia de SDRA antes de la corrección por multiplicidad. Todos los microARN presentan un logFC negativo, lo que indica la down-regulation de los microARN en los pacientes con SDRA en comparación con los pacinets con solo sepsis. Destacan por su magnitud de cambio hsa-miR-10b-5p (logFC = −4,44) y hsa-miR-145-5p (logFC = −4,40). Tras el ajuste por FDR, ningún microARN mantuvo la significación (p >0,05).

Tabla 2: MicroARN con expresión diferencial (p<0.05) pre ajuste por multiplicidad en pacientes con sepsis versus en pacientes con sepsis y SDRA

microARN	logFC	P-valor (Nominal)	P-valor ajustado (FDR)	Expresión en SDRA
hsa-miR-145-5p	-4.40	0.0018	0.7826	Disminuido
hsa-miR-99a-5p	-2.84	0.0054	0.7826	Disminuido
hsa-miR-10b-5p	-4.44	0.0057	0.7826	Disminuido
hsa-miR-26a-5p	-3.05	0.0068	0.7826	Disminuido
hsa-miR-30a-3p	-3.11	0.0076	0.7826	Disminuido
hsa-miR-497-5p	-2.62	0.0125	0.7826	Disminuido
hsa-miR-125b-5p	-1.78	0.0135	0.7826	Disminuido
hsa-miR-10a-5p	-4.36	0.0141	0.7826	Disminuido
hsa-miR-143-3p	-3.74	0.0151	0.7826	Disminuido
hsa-miR-199b-5p	-2.48	0.0152	0.7826	Disminuido
hsa-miR-199a-5p	-2.57	0.0175	0.7826	Disminuido
hsa-miR-574-3p	-1.79	0.0189	0.7826	Disminuido
hsa-miR-126-3p	-1.24	0.0210	0.7826	Disminuido
hsa-miR-22-3p	-1.02	0.0245	0.8174	Disminuido
hsa-miR-100-5p	-2.12	0.0279	0.8407	Disminuido
hsa-miR-199a-3p	-2.44	0.0346	0.8407	Disminuido
hsa-miR-140-3p	-1.33	0.0381	0.8407	Disminuido
hsa-miR-21-5p	-1.14	0.0465	0.8407	Disminuido

Nota: logFC: Log2 Fold Change (expresión diferencial en enfermos con y sin SDRA) ; P-valor nominal (sin ajustar); FDR: False Discovery Rate (Benjamini-Hochberg)

5.2. Análisis de la relación entre la expresión de microARN y la disfunción orgánica

En la tabla 3 se presentan los 10 microARNs que mostraron una correlación significativa (p<0,05) con el grado de disfunción orgánica sistémica medido por el

SOFA. Se identificaron tanto correlaciones negativas, donde destaca hsa-miR-6741-5p (ρ=−0,55), como correlaciones positivas, siendo hsa-miR-451b (ρ=0,51) la más relevante. Estos datos describen una asociación entre los niveles de expresión de estos microARNs y la gravedad clínica del paciente, aunque estas asociaciones no mantuvieron la significación tras el ajuste por comparaciones múltiples.

Tabla 3: Micro ARN relevantes pre ajuste por multiplicidad en la correlación de Spearman entre la expresión plasmática del mismo y el grado de disfunción orgánica medida en la escala SOFA.

microARN	**Rho**	**P-valor (nominal)**	**P-ajustado (FDR)**	**Expresión en P grave (SOFA aumentado)**
hsa-miR-6741-5p	-0.5533	0.0114	1	Disminuida
hsa-miR-451b	0.5123	0.0209	1	Aumentada
hsa-miR-20b-5p	-0.501	0.0246	1	Disminuida
hsa-miR-196b-5p	0.4882	0.0289	1	Aumentada
hsa-miR-582-3p	-0.4872	0.0296	1	Disminuida
hsa-miR-328-3p	-0.4768	0.0336	1	Disminuida
hsa-miR-15a-5p	-0.4749	0.0344	1	Disminuida
hsa-miR-664b-5p	0.4611	0.0407	1	Aumentada
hsa-miR-127-3p	-0.4476	0.0478	1	Disminuida
hsa-miR-1277-5p	-0.4471	0.0481	1	Disminuida

Nota: Rho (ρ): coeficiente de correlación de Spearman; P-valor nominal (sin ajustar); FDR: False Discovery Rate (Benjamini-Hochberg)

La figura 1 ordena los 10 microARNs que mostraron los coeficientes de correlación de Spearman (ρ) más elevados con la puntuación total de la escala SOFA mediante un gráfico de barras. Se observa el predominio de correlaciones negativas, donde moléculas como hsa-miR-6741-5p presentan los coeficientes más cercanos a -1, indicando una relación inversa entre sus niveles plasmáticos y la gravedad del fallo multiorgánico. Por el contrario, se identifican excepciones como hsa-miR-451b, cuya barra indica una correlación positiva con la gravedad sistémica.

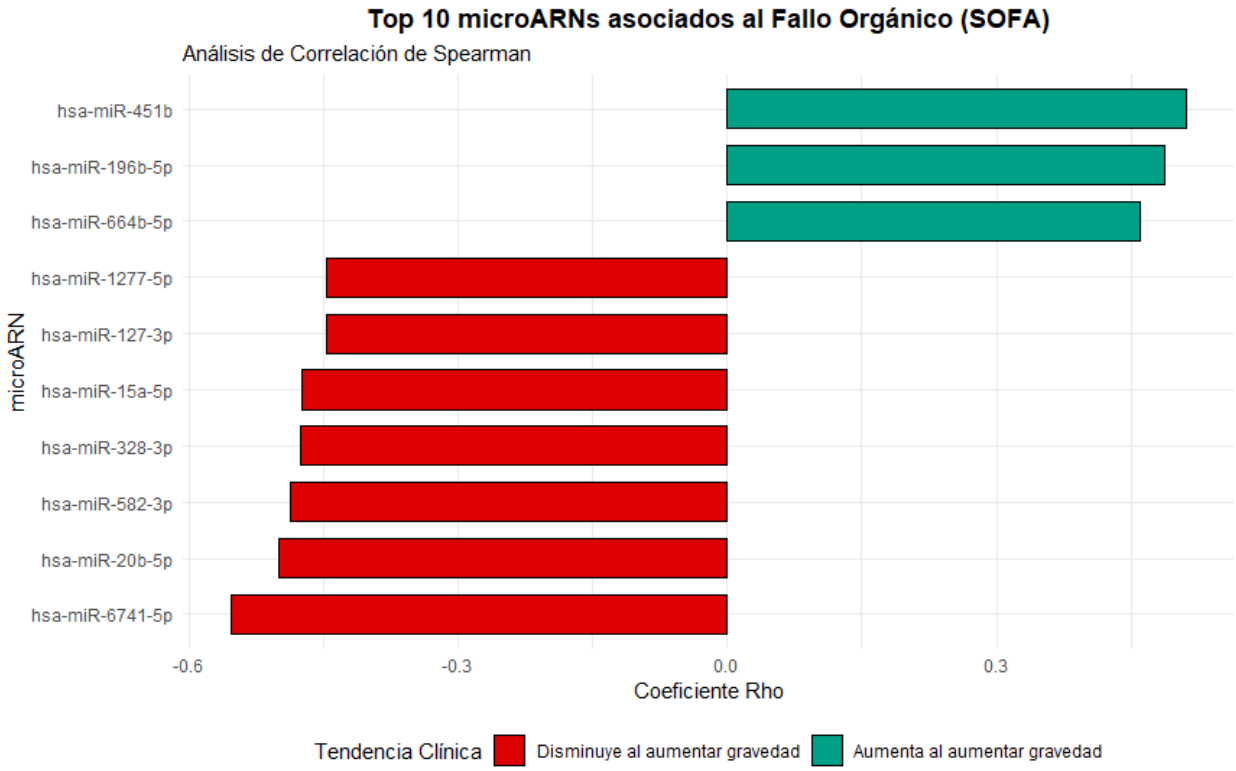


Figura 1: top 10 Micro ARN con p <0,05 en análisis no ajustado en la correlación de Spearman entre la expresión plasmática del mismo y el grado de disfunción orgánica medida en la escala SOFA.

La Figura 2 ilustra la correlación individual entre los niveles de expresión del hsa-miR-6741-5p y la escala SOFA. Se aprecia una tendencia negativa (Rho = -0.55), lo que evidencia de forma gráfica que a medida que aumenta la disfunción orgánica del paciente, la expresión de este microARN disminuye.

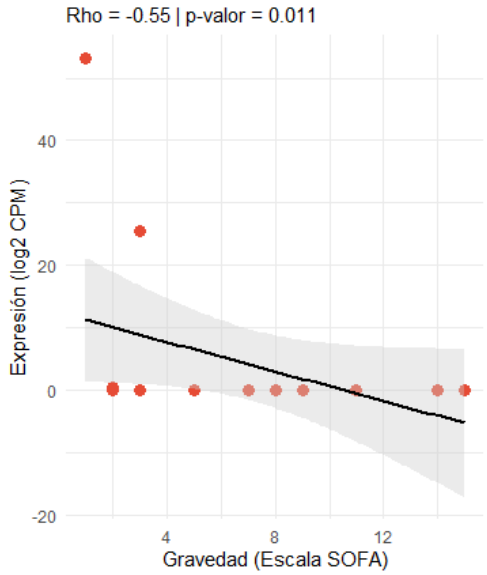


Figura 2: correlación entre los valores de hsa-miR-6741-5p vs SOFA

La Figura 3 representa la relación directa observada entre los valores de expresión del hsa-miR-451b y la puntuación de gravedad SOFA. A diferencia de la tendencia general, la correlación en este caso es positiva (Rho = 0.51), lo que gráficamente indica que los niveles plasmáticos de este microARN aumentan conforme se agrava el cuadro clínico sistémico del paciente

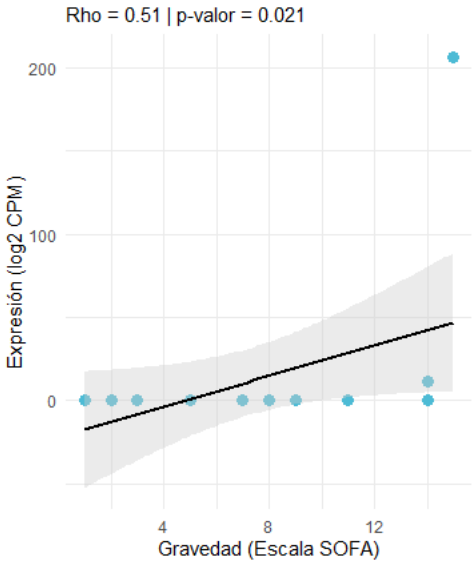


Figura 3: correlación entre los valores de hsa-miR-451b vs SOFA

La figura 4 plasma la correlación entre los niveles del hsa-miR-20b-5p y la escala SOFA. En consonancia con la tendencia predominante de pérdida de expresión, el gráfico muestra una relación inversa (Rho = -0.50), confirmando que una mayor puntuación de disfunción orgánica se asocia con una menor presencia de este microARN en plasma

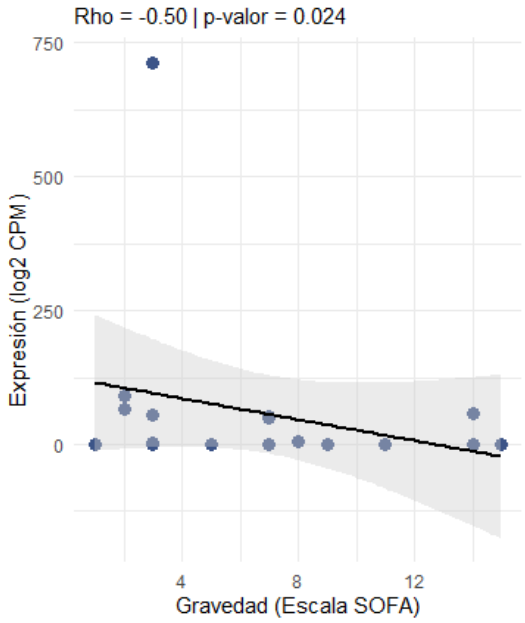


Figura 4: correlación entre los valores de hsa-miR-20b-5p vs SOFA

La tabla 4 detalla los microARNs cuya expresión plasmática se correlacionaron significativamente con el cociente PaO2/FiO2 pre ajuste por multiplicidad. Se observan correlaciones positivas en moléculas como hsa-let-7g-5p (ρ=0,73) y hsa-miR-30c-2-3p (ρ=0,73), lo que describe que niveles menores de estos microARNs se asocian con un mayor deterioro de la oxigenación. Por el contrario, hsa-miR-30e-5p mostró una correlación negativa significativa (ρ=−0,74), indicando una mayor expresión a medida que el índice de oxigenación disminuye.

5.3. Análisis de la relación entre la expresión de microARN y la disfunción de órganos

Tabla 4: MicroARNs con correlación significativa con la disfunción pulmonar (PaO2/FiO2) pre ajuste por FDR.

microARN	Rho	P-valor (Nominal)	P-valor ajustado (FDR)	Expresión en P grave (Fi/O2 disminuida)
hsa-let-7g-5p	0,7335	0.0012	0.2263	Disminuido
hsa-miR-30e-5p	- 0.7464	0.0014	0.2263	Aumentado
hsa-miR-30c-2-3p	0.7399	0.0016	0.2263	Disminuido
hsa-miR-491-5p	0.6842	0.0049	0.5163	Disminuido
hsa-miR-493-5p	0.6025	0.0175	0.8109	Disminuido
hsa-miR-652-3p	0.6025	0.0175	0.8109	Disminuido
hsa-miR-139-5p	0.5846	0.0221	0.8109	Disminuido
hsa-miR-3614-5p	0.5846	0.0221	0.8109	Disminuido
hsa-miR-29c-5p	0.5729	0.0256	0.8109	Disminuido
hsa-miR-454-3p	0.5699	0.0266	0.8109	Disminuido
hsa-miR-98-5p	0.5658	0.0279	0.8109	Disminuido
hsa-miR-7-5p	0.5588	0.0304	0.8109	Disminuido
hsa-miR-103b	0.5571	0.0310	0.8109	Disminuido
hsa-miR-485-5p	-0.5565	0.0312	0.8109	Aumentado
hsa-miR-103a-3p	0.5536	0.0323	0.8109	Disminuido
hsa-miR-32-5p	0.5496	0.0338	0.8109	Disminuido
hsa-miR-7c-5p	0.5286	0.0428	0.8109	Disminuido
hsa-miR-146ª-5p	-0.5143	0.0498	0.8109	Aumentado

Nota: Rho (ρ): coeficiente de correlación de Spearman; P-valor nominal (sin ajustar); FDR: False Discovery Rate (Benjamini-Hochberg)

La Figura 5 muestra los microARN más relevantes correlacionados con la función pulmonar, ordenados según su fuerza de asociación (Spearman Rho). Dado que un menor cociente PaO2/FiO2 implica un mayor daño pulmonar, el predominio de coeficientes positivos indica que la expresión de la mayoría de estos microARN disminuye a medida que avanza la disfunción respiratoria. En la parte inferior de la gráfica se observan las excepciones que muestran una correlación negativa, indicando un aumento de su expresión ante el deterioro de la oxigenación

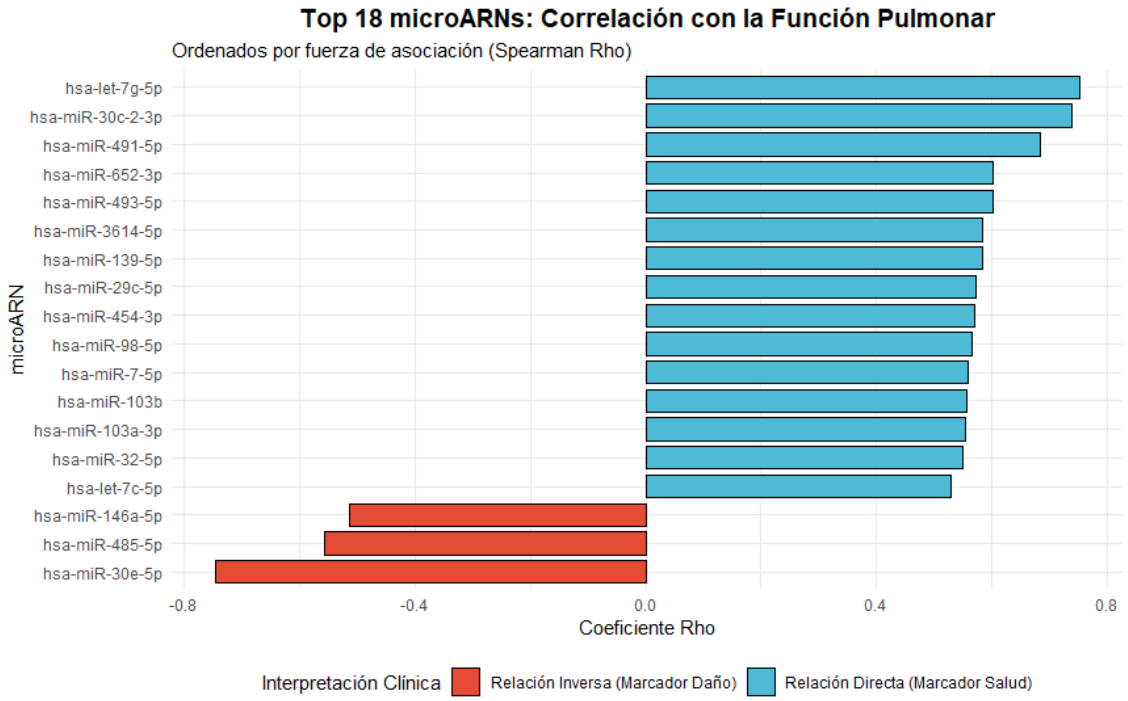


Figura 5: Micro ARN con p <0,05 en análisis no ajustadoen la correlación de Spearman con la función pulmonar ordenados según Rho

La figura 6 expone la fuerte asociación encontrada entre los niveles del hsa-let-7g-5p y el cociente PaO2/FiO2. Con un coeficiente positivo destacado (Rho = 0.75), la línea de tendencia de la gráfica demuestra cómo la expresión de este microARN decae a medida que la función pulmonar empeora

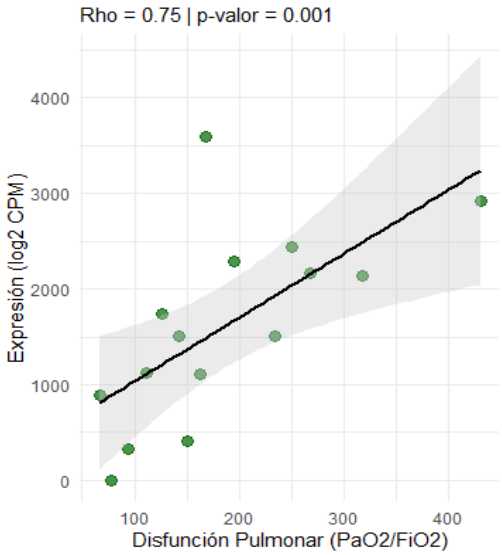


Figura 6: correlación entre los valores de hsa-let7g-5p vs PaO2/FiO2

La figura 7 muestra la correlación inversa entre la expresión del hsa-miR-30e-5p y el índice de oxigenación PaO2/FiO2. El gráfico refleja una pronunciada asociación negativa (Rho = -0.74), ilustrando visualmente que los niveles de este microARN se incrementan de manera significativa conforme el cociente PaO2/FiO2 disminuye.

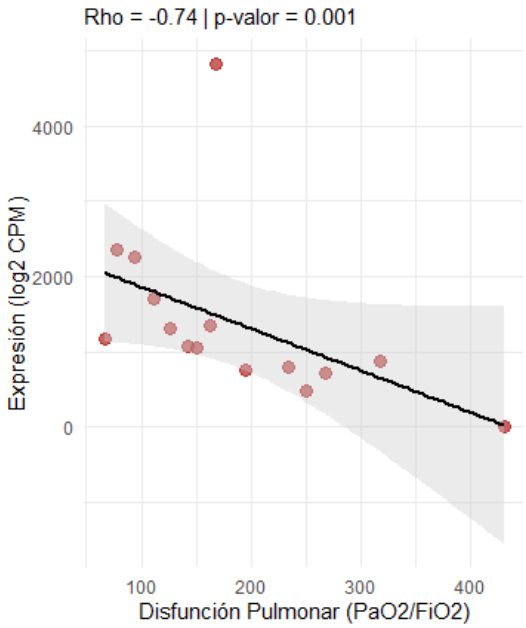


Figura 7: correlación entre los valores de hsa-miR-30e-5p vs PaO2/FiO2

6. DISCUSIÓN

En el presente TFG nos hemos marcado como objetivo principal discernir si existe un patrón de expresión diferencial de microARN propios de la sepsis con SDRA. Es decir, lo que hemos buscado hallar son microARN con un patrón característico de SDRA, una "firma molecular" de esta enfermedad. Mediante la secuenciación masiva hemos analizado un total de 472 microARN de los cuales solo han mostrado significación estadística 18, que son los que se han desglosado en la **Tabla 2.**

En dicha tabla podemos apreciar una tendencia la down-regulation de los microARN en los pacientes con SDRA. Esta pérdida de expresión sugiere que el SDRA podría suponer una pérdida de mecanismos reguladores y protectores mediados por microARN.

Entre los microARN que hemos analizado destaca el **hsa-miR-145-5p**, que presentó una de las mayores magnitudes de cambio (logFC = -4.40) y la mayor significación estadística nominal (p = 0.0018). El hsa-miR-145-5p es conocido por regular la homeostasis del músculo liso bronquial y ha sido descrito en estudios previos como un factor protector frente a la inflamación pulmonar (20,21). Su disminución por tanto en nuestro grupo de pacientes con SDRA podría favorecer una respuesta inflamatoria descontrolada y un aumento de la permeabilidad alveolo capilar por aumento de apoptosis (22).

Otro micro ARN especialmente relevante es el **hsa-miR-10b-5p** cuya magnitud de cambio (logFC -4.44) es muy parecida a la del hsa-miR-145-5p y cuya p nominal (p=0,0057) es también muy pequeña. Aunque en la literatura no existe información concreta sobre la acción de este microARN en el contexto del SDRA se ha demostrado que actúa como regulador negativo de la apoptosis en contextos de estrés celular e inflamación como son la hipoxia cardiaca (23) y la lesión medular (24).

Cabe destacar que pese a que los valores de P tras ser ajustados no alcanzaron el p<0,05 consideramos que los resultados son relevantes por el carácter ómico y explorativo de nuestro estudio. La coherencia de nuestros datos con los de estudios ya publicados y la magnitud de los Fold-Changes apoyan la validez de estos datos. No

obstante sería necesario realizar de validación con un mayor tamaño muestral para poder confirmar la asociación.

En la **tabla 3** podemos observar que micro ARN están asociados a la disfunción orgánica estratificada según el SOFA. La tabla 2 nos dice por tanto que existen correlaciones entre la expresión de microARN y el SOFA, coherentemente con la literatura (25,26).

Además podemos ver que los microARN tiene diferentes direcciones, expresadas en la **figura 1**, habiendo microARN con asociación negativa, lo cual indica que están infraexpresados conforme aumenta la sepsis y los postula como protectores y microARN con asociación positiva, es decir cuya expresión aumenta conforme se agrava la sepsis.

Respecto a los microARN con correlación inversa en sepsis cabe destacar al **hsa-miR-6741-5p** (Rho = - 0,55 y p = 0,011) plasmado en la **figura 2** y al **hsa-miR-20b-5p** (Rho = -0,50 y p = 0,025), expuesto en la **figura 4**. Y respecto a los que presentan correlación directa tenemos que hablar de **hsa-miR-451b** (Rho = +0,51; p = 0,020), desglosado en la **figura 3,** este microARN es particularmente interesante ya que en la literatura ha sido descrito su factor protector frente al estrés oxidativo en los eritrocitos mediante la represión de la proteína 14-3-3zeta (27), lo que nos lleva a discutir si su aumento es reactivo a la inflamación y es en realidad un microARN que actúa como protector o si su funcionamiento es diferente en este contexto; otros dato interesante es que hay estudios señalan al microRNA-451a; miembro del mismo cluster genético y que se mueve por tanto de forma coordinada con el b; como un indicador de fallo multiorgánico y riesgo de mortalidad en la sepsis (28), aunque en nuestro estudio no muestra una asociación significativa (rho= -0,11 y p = 0,644).

Como en la tabla anterior hemos de destacar que ninguna de las asociaciones observadas mantuvo significación estadística tras el ajuste por comparaciones múltiples. Hecho que puede explicarse principalmente por la penalización que supone en esta prueba el reducido tamaño muestral del estudio y por su carácter exploratorio, lo que limita la potencia estadística para detectar asociaciones robustas en un análisis ómico

de gran dimensión. A pesar de ello, la consistencia biológica de los resultados y la magnitud de algunas de las correlaciones observadas sugieren que estos microARN podrían desempeñar un papel relevante en la fisiopatología de la disfunción orgánica en la sepsis, siendo necesarios estudios posteriores de validación en cohortes más amplias.

Es de especial interés resaltar la disociación observada entre los marcadores presentes en el SDRA y los que indican la gravedad de la sepsis, microARN que resultaron críticos para identificar el SDRA frente a la sepsis (**Tabla 2**), como **hsa-miR-145-5p** o **hsa-miR-10-5p**, no han mostrado una correlación significativa con la puntuación SOFA. Este hallazgo sugiere que estos microARN actúan como biomarcadores del SDRA, pero no necesariamente como predictores de la evolución del fallo multiorgánico una vez establecida la patología.

Por último, en la **tabla 4** se establece relación entre la expresión de MicroARN y la disfunción pulmonar tomando como referencia la relación PO2/FiO2. En la tabla se exponen los microARN con p significativa antes del ajuste por FDR, revelando una firma molecular. Es importante recordar que un menor valor de PaO2/FiO2 indican mayor daño pulmonar.

En nuestra muestra observamos que la mayoría de los microARN presentan un rho positivo (**figura 5**). Puesto que un menor PaO2/FiO2 implica mayor gravedad, esta asociación indica que la expresión de estos microARN disminuye a medida que la disfunción pulmonar avanza, existiendo una relación directa entre el microARN y el valor de Rho. El candidato más destacado de este grupo es el **hsa-let-7g-5p** (rho = 0,753 y p = 0,001), expuesto en la **figura 6**. El papel de la familia "let-7" está ampliamente documentado en la literatura, siendo fundamental su papel en la regulación de la función endotelial, estando demostrado que contribuyen a la integridad de la barrera hematoencefálica en condiciones de inflamación (29) y que su restauración disminuye la permeabilidad vascular (30). Por tanto, no sería descabellado afirmar que la disminución de hsa-let-7g-5p asociada a la disminución de la PaO2/FiO2 podría favorecer el aumento de la permeabilidad capilar y el edema de pulmón en este contexto.

Por otro lado, un grupo reducido de microARN mostró una relación inversa: su expresión aumenta significativamente conforme disminuye la PaO2/FiO2. Este grupo está encabezado por el **hsa-miR-30e-5p** rho = -0,746 y p = 0,001), plasmado en la **figura 7**. En la literatura se ha descrito que este microARN participa en la regulación de la apoptosis (31) y autofagia (32) en condiciones de hipoxia, modulando vías mitocondriales tanto en el corazón como en el riñón.

Es interesante destacar que tal y como ocurría en la sepsis ninguno de los microARN significativos según la disfunción pulmonar coincide con los microARN "huella" del SDRA. Esto apoya la hipótesis planteada anteriormente de que unos microARN indicarían presencia de SDRA y otros gravedad.

Igual que en las correlaciones anteriores tras aplicar la corrección por tasa de falso descubrimiento (FDR) los valores p superan el umbral clásico de 0,05, una limitación esperable en estudios exploratorios de secuenciación masiva con un tamaño muestral de n=20, pero la elevada magnitud de los coeficientes de correlación en los candidatos principales junto con la literatura confiere solidez a estos resultados. Estos hallazgos abren la puerta a futuras investigaciones donde moléculas como hsa-let-7g-5p o hsa-miR-30e-5p puedan validarse no como herramientas para el diagnóstico diferencial inicial, sino como biomarcadores pronósticos de la evolución de la insuficiencia respiratoria en las Unidades de Cuidados Intensivos.

Entre los sesgos y limitaciones más relevantes que hemos encontrado:

Sesgos

- Dado que los pacientes procedieron de un único centro hospitalario, puede haber un sesgo de selección que limite la generalización de los resultados a otras poblaciones.
- Los criterios de exclusión podrían generar un sesgo poblacional.
- El uso de registros médicos como fuente de datos podría introducir sesgos de información debido a posibles errores en la documentación o datos faltantes.

Limitaciones

El tamaño reducido de la muestra puede limitar la capacidad de detectar diferencias significativas y puede afectar la precisión de los resultados

7. CONCLUSIONES

El presente TFG ha analizado el patrón de expresión de microARN en pacientes con sepsis y síndrome de distrés respiratorio agudo mediante técnicas de secuenciación masiva, en el contexto de un estudio de carácter exploratorio.

En relación con el objetivo principal los resultados obtenidos sugieren un patrón diferencial de expresión de microARN en pacientes con SDRA frente a aquellos con solo sepsis, caracterizado fundamentalmente por una disminución global en la expresión de múltiples microARN. Los microARN más relevantes por su magnitud de cambio en este contexto han sido hsa-miR-145-5p, hsa-miR-10b-5p, hsa-miR-10a-5p y hsa-miR-143-3p, postulándose como posibles biomarcadores en el contexto del SDRA.

En relación con el objetivo secundario de disfunción orgánica, se han observado asociaciones entre la expresión de diversos microARN y la puntuación SOFA. Entre los más relevantes se encuentran hsa-miR-6741-5p, hsa-miR-20b-5p y hsa-miR-451b (ρ = 0,51), mostrando tanto correlaciones negativas como positivas con el grado de disfunción orgánica.

Respecto al objetivo de disfunción pulmonar, se han identificado múltiples microARN con correlación con el cociente PaO_2/FiO_2. Destacan especialmente hsa-let-7g-5p (ρ = 0,73), hsa-miR-30c-2-3p y hsa-miR-30e-5p, este último mostrando una correlación inversa, con aumento de su expresión en relación con el empeoramiento de la función pulmonar.

Hay que destacar que los microARN significativos en el contexto de SDRA fueron diferentes de los significativos según la disfunción respiratoria y el SOFA, sin observarse una sobreposición clara entre los análisis.

No obstante, ninguno de los resultados alcanzó significación estadística tras el ajuste por comparaciones múltiples (FDR), lo cual es común en los estudios ómicos y se explica

por el reducido tamaño muestral y por el carácter exploratorio del estudio, limitando la robustez de las conclusiones.

En resumen, los resultados obtenidos permiten identificar un conjunto de microARN potencialmente asociados al SDRA y a la gravedad de la sepsis, aunque deben considerarse de carácter exploratorio y requieren validación en estudios con mayor tamaño muestra.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Zhang Q, Bao X, Cui M, Wang C, Ji J, Jing J, et al. Identification and validation of key biomarkers based on RNA methylation genes in sepsis. Front Immunol. 28 de agosto de 2023;14:1231898. doi:10.3389/fimmu.2023.1231898

2. Hashemian SM, Pourhanifeh MH, Fadaei S, Velayati AA, Mirzaei H, Hamblin MR. Non-coding RNAs and Exosomes: Their Role in the Pathogenesis of Sepsis. Mol Ther Nucleic Acids. septiembre de 2020;21:51-74. doi:10.1016/j.omtn.2020.05.012

3. Liu V, Escobar GJ, Greene JD, Soule J, Whippy A, Angus DC, et al. Hospital Deaths in Patients With Sepsis From 2 Independent Cohorts. JAMA. 2 de julio de 2014;312(1):90. doi:10.1001/jama.2014.5804

4. Chen H, Zhang X, Su H, Zeng J, Chan H, Li Q, et al. Immune dysregulation and RNA N6 -methyladenosine modification in sepsis. WIREs RNA. mayo de 2023;14(3):e1764. doi:10.1002/wrna.1764

5. Wang M, Jin X, Liao Q, Pu Y, Xu X, Ren X, et al. Integrating single-cell RNA sequencing and bulk RNA sequencing data to predict acute respiratory distress syndrome in sepsis patients. Genes Dis. enero de 2025;12(1):101271. doi:10.1016/j.gendis.2024.101271

6. Chen YS, Liao TY, Hsu TC, Hsu WT, Lee MTG, Lee CC. Temporal trend and survival impact of infection source among patients with sepsis: a nationwide study. Crit Care Resusc. marzo de 2020;22(2):126-32. doi:10.51893/2020.2.oa2

7. Vincent JL, Sakr Y, Singer M, Martin-Loeches I, Machado FR, Marshall JC, et al. Prevalence and Outcomes of Infection Among Patients in Intensive Care Units in 2017. JAMA. 21 de abril de 2020;323(15):1478. doi:10.1001/jama.2020.2717

8. Shi W, Zhu W, Yu J, Shi Y, Zhao Y. LncRNA HOTTIP as a diagnostic biomarker for acute respiratory distress syndrome in patients with sepsis and to predict the short-term clinical outcome: a case-control study. BMC Anesthesiol. 18 de enero de 2024;24(1):30. doi:10.1186/s12871-024-02405-z

9. Acute Respiratory Distress Syndrome: The Berlin Definition. JAMA. 20 de junio de 2012;307(23). doi:10.1001/jama.2012.5669

10. Shen YZ, Yao YD, Li HL, Li Y, Hu YC. CTSO and HLA-DQA1 as biomarkers in sepsis-associated ARDS: insights from RNA sequencing and immune infiltration analysis. BMC Infect Dis. 7 de marzo de 2025;25(1):326. doi:10.1186/s12879-025-10726-8

11. Comas I, Cancino-Muñoz I, Mariner-Llicer C, Goig GA, Ruiz-Hueso P, Francés-Cuesta C, et al. Uso de las tecnologías de secuenciación masiva para el diagnóstico y epidemiología de enfermedades infecciosas. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. enero de 2020;38:32-8. doi:10.1016/j.eimc.2020.02.006

12. Zhang C, Huang Q, He F. Correlation of small nucleolar RNA host gene 16 with acute respiratory distress syndrome occurrence and prognosis in sepsis patients. J Clin Lab Anal. julio de 2022;36(7):e24516. doi:10.1002/jcla.24516

13. Liu W, Geng F, Yu L. Long non-coding RNA MALAT1/microRNA 125a axis presents excellent value in discriminating sepsis patients and exhibits positive association with general disease severity, organ injury, inflammation level, and mortality in sepsis patients. J Clin Lab Anal. junio de 2020;34(6):e23222. doi:10.1002/jcla.23222

14. Quan Y, Gao S. LncRNA HOXA-AS2 Can Predict the Risk of Acute Respiratory Distress Syndrome and 28-Day Mortality in Patients With Sepsis. Clin Respir J. mayo de 2025;19(5):e70082. doi:10.1111/crj.70082

15. Wang T, Fang X, Sheng X, Li M, Mei Y, Mei Q, et al. Identification of immune characteristic biomarkers and therapeutic targets in cuproptosis for sepsis by integrated bioinformatics analysis and single-cell RNA sequencing analysis. Heliyon. marzo de 2024;10(5):e27379. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e27379

16. Fu L, Feng X, Ni D, Huang X, Gao C, Zhang C. Single-cell RNA sequencing identifies CCR4 as a therapeutic target for sepsis with DB07845 as a potential inhibitor. Curr Pharm Anal. noviembre de 2025;21(10):476-85. doi:10.1016/j.cpan.2025.10.003

17. Deshpande D, Chhugani K, Chang Y, Karlsberg A, Loeffler C, Zhang J, et al. RNA-seq data science: From raw data to effective interpretation. Front Genet. 13 de marzo de 2023;14:997383. doi:10.3389/fgene.2023.997383

18. Zhang P, Xu CL, Xu L, Wu JJ, Wang L. Pyroptosis-Related Genes as Prognostic Biomarkers and Immune Infiltration Features in Sepsis-Induced ARDS: A Single-Cell and Bulk RNA-Sequencing Analysis. J Inflamm Res. octubre de 2025;Volume 18:14261-82. doi:10.2147/JIR.S539379

19. Moreno R, Rhodes A, Piquilloud L, Hernandez G, Takala J, Gershengorn HB, et al. The Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score: has the time come for an update? Crit Care. 13 de enero de 2023;27(1):15. doi:10.1186/s13054-022-04290-9

20. Han Y, Mu S cheng, Wang J li, Wei W, Zhu M, Du S lin, et al. MicroRNA-145 plays a role in mitochondrial dysfunction in alveolar epithelial cells in lipopolysaccharide-induced acute respiratory distress syndrome. World J Emerg Med. 2021;12(1):54. doi:10.5847/wjem.j.1920-8642.2021.01.009

21. Lin Y, Liu L, Lin Y, Yang R, Liao S, Xu M, et al. MiR-145 Alleviates Sepsis-Induced Inflammatory Responses and Organ Injury by Targeting ADAM17. Front Biosci-Landmark. 23 de enero de 2024;29(1):44. doi:10.31083/j.fbl2901044

22. Qiao L, Li R, Hu S, Liu Y, Liu H, Wu H. MICRORNA -145-5p attenuates acute lung injury via targeting ETS2. Kaohsiung J Med Sci. junio de 2022;38(6):565-73. doi:10.1002/kjm2.12556

23. Wu L, Chen Y, Chen Y, Yang W, Han Y, Lu L, et al. Effect of HIF-1α/miR-10b-5p/PTEN on Hypoxia-Induced Cardiomyocyte Apoptosis. J Am Heart Assoc. 17 de septiembre de 2019;8(18):e011948. doi:10.1161/JAHA.119.011948

24. Liu S, Liu H, Gong C, Li G, Li Q, Pan Z, et al. MiR-10b-5p Regulates Neuronal Autophagy and Apoptosis Induced by Spinal Cord Injury Through UBR7. Neuroscience. abril de 2024;543:13-27. doi:10.1016/j.neuroscience.2024.02.013

25. Maiese A, Scatena A, Costantino A, Chiti E, Occhipinti C, La Russa R, et al. Expression of MicroRNAs in Sepsis-Related Organ Dysfunction: A Systematic Review. Int J Mol Sci. 19 de agosto de 2022;23(16):9354. doi:10.3390/ijms23169354

26. Meidert AS, Buschmann D, Brandes F, Kanev K, Billaud JN, Borrmann M, et al. Molecular RNA Correlates of the SOFA Score in Patients with Sepsis. Diagnostics. 9 de septiembre de 2021;11(9):1649. doi:10.3390/diagnostics11091649

27. Yu D, Dos Santos CO, Zhao G, Jiang J, Amigo JD, Khandros E, et al. miR-451 protects against erythroid oxidant stress by repressing 14-3-3ζ. Genes Dev. 1 de agosto de 2010;24(15):1620-33. doi:10.1101/gad.1942110

28. Geng F, Liu W, Yu L. MicroRNA-451a and Th1/Th2 ratio inform inflammation, septic organ injury, and mortality risk in sepsis patients. Front Microbiol. 4 de agosto de 2022;13:947139. doi:10.3389/fmicb.2022.947139

29. Rom S, Dykstra H, Zuluaga-Ramirez V, Reichenbach NL, Persidsky Y. miR-98 and let-7g* Protect the Blood-Brain Barrier Under Neuroinflammatory Conditions. J Cereb Blood Flow Metab. diciembre de 2015;35(12):1957-65. doi:10.1038/jcbfm.2015.154

30. Bernstein DL, Gajghate S, Reichenbach NL, Winfield M, Persidsky Y, Heldt NA, et al. let-7g counteracts endothelial dysfunction and ameliorating neurological functions in mouse ischemia/reperfusion stroke model. Brain Behav Immun. julio de 2020;87:543-55. doi:10.1016/j.bbi.2020.01.026

31. Mo B, Wu X, Wang X, Xie J, Ye Z, Li L. miR-30e-5p Mitigates Hypoxia-Induced Apoptosis in Human Stem Cell-Derived Cardiomyocytes by Suppressing Bim. Int J Biol Sci. 2019;15(5):1042-51. doi:10.7150/ijbs.31099

32. Liu X, Li Q, Sun L, Chen L, Li Y, Huang B, et al. miR-30e-5p Regulates Autophagy and Apoptosis by Targeting Beclin1 Involved in Contrast-induced Acute Kidney Injury. Curr Med Chem. 8 de diciembre de 2021;28(38):7974-84. doi:10.2174/0929867328666210526125023

9. ANEXOS

Resolución positiva del CEIM

Hospital Universitario de Getafe
SaludMadrid

INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS (CEIm) DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GETAFE

D. Óscar Peñuelas Rodríguez, Presidente del Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos (CEIm) del Hospital Universitario de Getafe

CERTIFICA:

Que ha sido revisada la documentación presentada por la Investigadora Principal Dña. María Matute Humanes, alumna de la Facultad de Medicina de la Universidad Europea de Madrid, en la que se incluyen los cambios solicitados en el informe favorable condicionado, emitido por el CEIm de este Hospital, en la reunión que tuvo lugar el día jueves, 29 de enero de 2026 (A01/26), en relación a la evaluación del Trabajo fin de Grado titulado: **"Secuenciación masiva de ARN en SEPSIS con Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo".**

- **Protocolo:** *Versión 2, 06/02/2026*

Y considera que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del Protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- La capacidad del investigador y los medios disponibles son adecuados para llevar a cabo el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto de los postulados éticos.

Por ello, este Comité emite **Informe Favorable** sobre la realización de dicho Trabajo fin de Grado a, Dña. María Matute Humanes, alumna del Grado de Medicina de la Universidad Europea de Madrid, como Investigadora Principal y cuyo tutor es el Dr. José Ángel Lorente Balanza, del Servicio de Medicina Intensiva de nuestro centro.

Lo que firmo en Getafe, a 09 de febrero de 2026.

Hospital Universitario de Getafe

SaludMadrid

D. Óscar Peñuelas Rodríguez, Presidente del Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos del Hospital Universitario de Getafe.

HACE CONSTAR QUE:

Que la composición del CEIm, en la reunión en la que ha sido evaluado el Trabajo fin de Grado titulado: **"Secuenciación masiva de ARN en SEPSIS con Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo"**. *Versión 2, 06/02/2026*

Es la siguiente:

Presidente	D. Óscar Peñuelas Rodríguez
Vicepresidenta	Dña. Mª Teresa Ramírez López
Secretaria Técnica	Dña. Isabel Sánchez Muñoz
Vocales	Dña. Rocío Álvarez Nido Dña. Mercedes M. Cavanagh Dña. Marina Carbonero García Dña. Ana Isabel Castillo Varón Dña. Patricia Cuenca Gómez Dña. Irene Cuadrado Pérez Dña. Mª Concepción García Escudero Dña. Marta González Bocanegra Dña. Olga Laosa Zafra Dña. Teresa Molina García D. Alfonso Monereo Alonso Dña. Rocío Queipo Matas D. Javier Sánchez-Rubio Ferrández Dña. Ana Rosa Solórzano Martín

Tabla de variables

VARIABLE	TIPO	DEFINICIÓN	UNIDADES CATEGORÍAS	EXPLICACIÓN
Variables principales				
Diagnóstico de SDRA	Cualitativa dicotómica nominal	Variable principal	SI/NO	Diagnosticaremos el SDRA si cumple criterios de Berlín (9)
*Expresión de MicroARN **	Cuantitativa continua	Variable principal	Log2(Counts Per Million +1)	Expresión normalizada de 472 microARN obtenida por secuenciación masiva.
Variables secundarias				
Disfunción pulmonar	Cuantitativa continua	Variable secundaria	Coeficiente PaO2/FiO2 mmHg	Siendo PaO2 entendida como presión arterial de oxígeno obtenida en la gasometría y FiO2 fracción inspirada de oxígeno que es conocida según ventilación.
Estancia en el hospital	Cuantitativa discreta	Variable secundaria	Días cumplidos	Se calculará restando la fecha de muerte/alta a la fecha de ingreso
Edad donante	Cuantitativa discreta	Variable secundaria	Años cumplidos	
Sexo donante	Cualitativa dicotómica nominal	Variable secundaria	Hombre / Mujer	
Disfunción orgánica	Cuantitativa discreta	Variable secundaria	0-24 siendo a mayor puntuación peor	Medida por la escala SOFA (Sequential Organ Failure Assesment) (19)
Origen de la infección	Cualitativa politómica nominal	Variable secundaria	Respiratorio, abdominal y partes blandas	Origen de la infección que dio lugar a la sepsis

DECLARACIÓN SOBRE EL USO DE CHATGPT Y HERRAMIENTAS DE IA

Yo, María Matute Humanes, estudiante del Grado en Medicina y autor/a del Trabajo Fin de Grado titulado:

"**SECUENCIACIÓN MASIVA DE ARN EN SEPSIS CON SÍNDROME DE DISTRES RESPIRATORIO AGUDO"**, declaro que:

1. Uso no permitido:

- No he utilizado ChatGPT ni otras herramientas de inteligencia artificial para realizar análisis estadísticos, procesar datos, ni para elaborar de forma automática el contenido principal del Protocolo.

- El diseño metodológico, la recogida y análisis de los datos, así como la redacción científica del trabajo, son fruto de mi propio esfuerzo académico.

2. Uso permitido:

Reconozco que he podido emplear ChatGPT y/o herramientas similares exclusivamente como apoyo en:

- Mejora de la redacción y claridad del texto.
- Resolución de dudas conceptuales o terminológicas.

3. Responsabilidad académica:

- Soy plenamente responsable de todo el contenido de este Trabajo Fin de Grado. o Garantizo que las ideas, aquí presentados reflejan mi propio trabajo, y que cualquier recurso bibliográfico utilizado ha sido adecuadamente citado siguiendo las normas de la universidad.

En Madrid, a 1 de abril de 2026.

Firma del/de la estudiante: María Matute Humanes