

Análisis exploratorio multivariante para el estudio longitudinal de la distribución anormal de grasa, masa magra y/o masa ósea en individuos infectados por VIH

Guillermo Andrés Fernández Olivares

Máster interuniversitario de Bioinformática y Bioestadística (UOC-UB)
Área 5: Estadística Bioinformática

Núria Pérez Álvarez
Esteban Vegas Lozano

06/2019



Esta obra está sujeta a una licencia de Reconocimiento-CompartirIgual [3.0 España de Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/es/)

FICHA DEL TRABAJO FINAL

| | |
|------------------------------------|--|
| Título del trabajo: | <i>Análisis exploratorio multivariante para el estudio longitudinal de la distribución anormal de grasa, masa magra y/o masa ósea en individuos infectados por VIH</i> |
| Nombre del autor: | <i>Guillermo Andrés Fernández Olivares</i> |
| Nombre del consultor/a: | <i>Núria Pérez Álvarez, Esteban Vegas Lozano</i> |
| Nombre del PRA: | <i>Alexandre Sánchez Pla</i> |
| Fecha de entrega (mm/aaaa): | 06/2019 |
| Titulación: | <i>Máster interuniversitario de Bioinformática y Bioestadística (UOC-UB)</i> |
| Área del Trabajo Final: | <i>Área 5: Estadística Bioinformática</i> |
| Idioma del trabajo: | <i>Español</i> |
| Palabras clave | <i>VIH, masa corporal, análisis estadístico multivariante longitudinal</i> |

Resumen del Trabajo (máximo 250 palabras): *Con la finalidad, contexto de aplicación, metodología, resultados y conclusiones del trabajo.*

Una de las enfermedades que ha experimentado un aumento en su prevalencia durante las últimas décadas a nivel mundial es la infección por VIH. Los pacientes infectados por este virus padecen toda una serie de cambios en la masa grasa, magra y ósea que, en conjunto, provocan una disminución en su calidad de vida. Esta disminución da lugar a un aumento del desarrollo de patologías de carácter cardiovascular, a un incremento en la predisposición a padecer lesiones musculares y a una mayor probabilidad de sufrir fracturas óseas. Todas estas se relacionan con una aceleración del proceso de envejecimiento asociado a la disminución de la funcionalidad del sistema inmunitario.

Una buena comprensión de cada una de las fases de la enfermedad puede ayudar al desarrollo de soluciones que mejoren la calidad de vida de los pacientes que la sufren. Por este motivo, se propone este proyecto de fin de máster, englobado dentro del área de la *Estadística Bioinformática*, con el objetivo de determinar qué variables se encuentran relacionadas con los cambios fisiológicos descritos y cuáles son los cambios que experimentan los pacientes afectados a lo largo del tiempo. Para ello, se recurre al uso de métodos estadísticos multivariantes como el *Análisis de Componentes Principales*, el *Análisis de Correlaciones Canónicas* y el *Análisis Multifactorial*, debido a la capacidad que presentan de ilustrar en pocas dimensiones la información contenida en un número elevado de variables. Para su aplicación, se recurre al lenguaje de programación estadístico *R*.

Abstract (in English, 250 words or less):

HIV infection has experienced an increase in its prevalence during the last decades. HIV patients experienced physiological changes related to fat mass, lean mass and bone mass, causing a reduction in their quality of life. This situation is reflected in a rise of development of cardiovascular diseases, as well as an increase of muscular injuries and a high probability to suffer bone fractures. All of them are related to a quicker aging associated with a decrease in immunology system functionality.

A good comprehension of HIV pathology allows researchers to develop solutions in order to improve the quality of life of all these patients. For this reason, the aim of this final MSc project, related to Statistical Bioinformatics, consisted on find which variables are related to the physiological changes mentioned, besides which kind of body changes experience these patients in a long term. For this aim, multivariate statistical methods such as *Principal Component Analysis (PCA)*, *Canonical Correlation Analysis (CCA)* and *Multifactorial Analysis (MFA)* were used during the development of this project, due to their ability to illustrate in scant dimensions all the information storage in a big number of variables. *R* programming language was used to apply all these statistical methods.

Índice

| | |
|---|----|
| 1. Introducción | 1 |
| 1.1 Contexto y justificación del trabajo | 1 |
| 1.1.1 Contexto | 1 |
| 1.1.2 Justificación del trabajo | 3 |
| 1.3 Planificación del Trabajo | 4 |
| 1.3.1 Descripción | 4 |
| 1.3.1.1 Estudio bibliográfico de la problemática a resolver (fase 1) | 4 |
| 1.3.1.2 Análisis estadístico multivariante de la base de datos (fase 2) .. | 5 |
| 1.3.1.3 Planteamiento de posibles soluciones que permitan mejorar la calidad de pacientes VIH+ (fase 3). | 6 |
| 1.3.1.4 Redacción de la memoria y presentación TFM (fase 4) | 6 |
| 1.3.2 Diagrama de Gantt | 7 |
| 1.4 Hitos y productos | 7 |
| 1.5 Breve descripción de los otros capítulos de la memoria | 8 |
| 2. Materiales y métodos | 9 |
| 2.1 Búsqueda bibliográfica | 9 |
| 2.2 Software estadístico | 9 |
| 2.3 Base de datos DEXA | 9 |
| 2.4 Control de calidad de la base de datos DEXA | 9 |
| 2.5 Análisis estadístico descriptivo | 10 |
| 2.5.1 Procedimiento | 10 |
| 2.5.2 Prueba de Chi-cuadrado | 10 |
| 2.5.3 Ejecución en R | 10 |
| 2.6 Clasificación de pacientes en función de su estado patológico | 10 |
| 2.6.1 Procedimiento | 10 |
| 2.6.2 Análisis de Componentes Principales | 11 |
| 2.6.3 Ejecución en R | 11 |
| 2.7 Análisis de correlaciones canónicas | 11 |
| 2.7.1 Procedimiento | 11 |
| 2.7.2 Análisis de Correlaciones Canónicas | 12 |
| 2.7.3 Ejecución en R | 12 |
| 2.8 Estudio estadístico multivariante longitudinal | 12 |
| 2.8.1 Procedimiento | 12 |
| 2.8.2 Análisis Multifactorial | 13 |
| 2.8.3 Ejecución en R | 13 |
| 3. Resultados | 14 |
| 3.1 Análisis estadístico descriptivo | 14 |
| 3.2 Análisis de Componentes Principales (PCA) | 15 |
| 3.2.1 Pacientes con VIH de género masculino | 15 |
| 3.2.2 Pacientes con VIH de género femenino | 17 |
| 3.3 Análisis de Correlaciones Canónicas | 19 |
| 3.3.1 Masa grasa | 19 |
| 3.3.2 Masa ósea | 20 |
| 3.3.3 Masa magra | 21 |
| 3.4 Análisis estadístico multivariante longitudinal | 22 |
| 4. Discusión | 24 |
| 5. Conclusiones | 27 |
| 5.1 Conclusión | 27 |
| 5.2 Futuras actualizaciones | 27 |
| 6. Glosario | 29 |
| 7. Bibliografía | 30 |
| 8. Anexos | 32 |

Lista de figuras

1. Figura 1: diagrama de Gantt con la distribución temporal de las tareas pertenecientes a cada fase del proyecto de fin de máster llevado a cabo – pág. 7.
2. Tabla 1: análisis estadístico descriptivo para las principales variables que definen las características de los pacientes con VIH pertenecientes a la base de datos DEXA (en función del género) – pág. 10.
3. Ilustración 1: gráfico de asociaciones asociado al test de independencia Chi-squared llevado a cabo entre géneros y categorías de BMI para pacientes VIH pertenecientes a la base de datos DEXA – pág. 10.
4. Ilustración 2: (A) Clasificación de los pacientes varones infectados por VIH pertenecientes a la base de datos DEXA en lipodistróficos (Dimensión 2 > 0), no lipodistróficos (Dimensión 2 < 0), masa magra y ósea normal (Dimensión 1 > 0), masa magra y ósea reducida (Dimensión 1 < 0). (B) Variables asociadas a cada una de las componentes principales del PCA y su peso a nivel estadístico – pág. 11.
5. Tabla 2: Tabla de frecuencias patológica de los pacientes varones con VIH pertenecientes a la base de datos DEXA (en base al análisis de componentes principales correspondiente a la ilustración 2) – pág. 11.
6. Ilustración 3: (A) clasificación de las pacientes mujeres infectadas por VIH pertenecientes a la base de datos DEXA en lipodistróficas (Dimensión 2 > 0), no lipodistróficas (Dimensión 2 < 0), masa magra y ósea normal (Dimensión 1 > 0), masa magra y ósea reducida (Dimensión 1 < 0). (B) Variables asociadas a cada una de las componentes principales del PCA y su peso a nivel estadístico - pág. 12.
7. Tabla 3: tabla de frecuencias patológica de las pacientes mujeres con VIH pertenecientes a la base de datos DEXA (en base al análisis de componentes principales referente a la ilustración 3) - pág. 12.
8. Ilustración 4: análisis de correlaciones canónico entre las variables que definen las características de los pacientes con VIH lipodistróficos (color rojo) y las variables relacionadas con las mediciones DEXA referentes a su masa magra (color azul) en (A) extremidades superiores y (B) en extremidades inferiores - pág. 13.
9. Ilustración 5: análisis de correlaciones canónico entre las variables que definen las características de los pacientes con VIH osteoporóticos (color rojo) y las variables relacionadas con las mediciones DEXA referentes a su masa ósea (color azul) en (A) región 1 y 2 de la columna lumbar, (B) región 3 y 4 de la columna lumbar y (C) regiones conjuntas de la columna lumbar - pág. 13.
10. Ilustración 6: análisis de correlaciones canónico entre variables que definen las características de los pacientes con VIH sarcopénicos (color rojo) y las variables relacionadas con las mediciones DEXA de su masa magra (color azul) en extremidades superiores e inferiores - pág. 14
11. Ilustración 7: Análisis multifactorial de tipo longitudinal para las variables pertenecientes a la base de datos DEXA. (A) Correlaciones entre grupos de variables pertenecientes a la base de datos (grupo 1 – momento de registro de medición DEXA, grupo 2 – conjunto de variables referentes a las características generales de los pacientes, grupo 3 – conjunto de variables relacionadas con las mediciones DEXA de la masa grasa, grupo 4 – conjunto de variables relacionadas con las mediciones DEXA de la masa magra, grupo 5 – conjunto de variables relacionadas con las mediciones DEXA de la densidad de masa ósea. (B) Variables asociadas a cada una de las componentes principales del PCA y su peso a nivel estadístico - pág. 14

1. Introducción

1.1 Contexto y justificación del trabajo

1.1.1 Contexto

A pesar del aumento de casos de infección por VIH a lo largo de las últimas décadas (especialmente en aquellos pacientes que superan los 50 años de edad) (1), el tratamiento antirretroviral (*Antiretroviral Therapy* - ART) ha permitido que los pacientes afectados hayan experimentado un aumento en su esperanza y calidad de vida durante los últimos años (2). Sin embargo, y a pesar de que el ART permite el aumento de peso en este tipo de pacientes, muchos de ellos acaban desarrollando toda una serie de cambios tanto a nivel fisiológico como a nivel metabólico durante los primeros años de exposición (2,3).

Uno de los cambios fisiológicos que desarrollan consiste en un aumento anormal de tejido adiposo blanco en determinadas regiones del organismo, especialmente durante los dos primeros años de exposición al ART (3). En relación a este suceso, dos terceras partes del total de pacientes VIH⁺ padecen sobrepeso u obesidad en la actualidad (2). Además, se observa como esta ganancia se encuentra correlacionada tanto con niveles elevados de RNA vírico como con niveles bajos de linfocitos T CD4⁺ (2–4).

Otro de los cambios que se asocian con la ganancia de peso descrita es la distribución anormal de masa grasa, siendo el tejido adiposo visceral (*Visceral Adipose Tissue* - VAT) una de las regiones donde mayor es la acumulación. El VAT se encuentra presente tanto en la región profunda del abdomen como alrededor de los órganos internos, regiones donde tiene lugar una hipertrofia de los adipocitos blancos. Es en estos puntos donde tiene lugar un proceso de expansión tisular, mayor en mujeres que en hombres, según estudios estadísticos llevados a cabo (2–5).

El proceso de expansión se asocia con un cambio en el perfil de secreción de adipoquinas, disminuyendo aquellas con un perfil antiinflamatorio (*adiponectina*) y aumentando aquellas con un perfil proinflamatorio (*TNF-β*, *resistina*, etc.). Este hecho afecta a la acción de la insulina tanto en el tejido muscular como en el tejido hepático, ya que los bajos niveles de adiponectina circulante se asocian con una reducción del número de receptores de insulina activos en éstos. Por consiguiente, disminuye el número de receptores *Glut4* que permiten la entrada de glucosa al interior celular (la adiponectina favorece la activación de las vías de señalización que activan dichos receptores) (6). De este modo, se explica que los pacientes VIH⁺ presenten resistencia insulínica y, por ende, diabetes tipo II, uno de los principales desencadenantes de la aparición de enfermedades de tipo cardiovascular.

Por su parte, el proceso de angiogénesis no se da al mismo nivel que el proceso de expansión tisular. Al no poder abarcar este fenómeno el grado de hipertrofia alcanzado, se generan regiones del tejido adiposo blanco donde los adipocitos no reciben vascularización, de manera que se genera un estado de hipoxia que puede inducir a su muerte celular. Es en este punto donde se facilita el reclutamiento e infiltración de macrófagos a nivel tisular (6).

Los macrófagos pierden la capacidad de almacenar hierro a nivel citosólico, lo cual se traduce en un aumento de hierro citoplasmático en los adipocitos. Este metal estimula el aumento de especies reactivas de oxígeno (*Reactive oxygen species* - ROS) y posterior disfunción mitocondrial, influyendo así en el establecimiento del desequilibrio de liberación de adipoquinas (4).

Los efectos que se generan a causa del proceso de hipertrofia celular no se limitan a los descritos anteriormente, ya que se ha visto como el VAT es un reservorio para el VIH (2). Se cree, además, que su presencia en esta región provoca modificaciones tanto en determinadas vías de transducción de señal como en la expresión de algunos genes de los adipocitos. Por esta razón, se plantea la hipótesis de que la proteína *Vps* del propio virus puede inducir una inhibición de la vía *PPAR-γ*, además de un aumento de la expresión de genes que codifican para glucocorticoides como, por ejemplo, el cortisol (4). Estos cambios pueden inducir un aumento de la lipólisis, aumentando la movilización de los lípidos en el organismo y provocando la aparición de patologías hepáticas de diferente tipo (esteatosis hepática, hígado graso no alcohólico, fibrosis y cirrosis) (2,4,7).

La hipótesis descrita podría concordar con los resultados obtenidos en estudios ya publicados, donde se estima la prevalencia de exceso de grasa hepática en pacientes VIH⁺ entre un 30% y un 40%. Este dato es de suma importancia, pues este hecho influye en la cronificación de la resistencia insulínica, dislipemias y enfermedades cardiovasculares de diferente tipo (7).

No obstante, es importante recalcar que el VAT no es la única región fisiológica donde se observa una expansión tisular del tejido adiposo blanco. La exposición al ART se relaciona con un aumento de este tejido en la región troncal y en las piernas, en ambos casos teniendo la posibilidad de desencadenar los mismos cambios hormonales y metabólicos descritos anteriormente. Además, estudios estadísticos muestran como esta hipertrofia incrementa en todos los intervalos de edad para estos pacientes, ya sean hombres o mujeres (7).

A pesar de este incremento independiente del género, existen diferencias en cuanto a la distribución de masas entre hombres y mujeres. Por ejemplo, la región donde existe una mayor acumulación de masa grasa en mujeres es en la zona glúteo-femoral, mientras que, en el caso de los hombres, es la región abdominal (8). En cuanto a la masa ósea, la menopausia es una variable que únicamente afecta a las mujeres (1). Por último, el porcentaje de masa magra en hombres es superior en comparación al de las mujeres (9).

Otro de los cambios notorios que experimentan los pacientes VIH⁺ es la alteración en la composición corporal. Estudios llevados a cabo confirman porcentajes de prevalencia elevados para ambas enfermedades en este tipo de pacientes (10).

Una de las hipótesis que se plantea para justificar estos resultados establece el VIH como factor que acelera los signos relacionados con el envejecimiento (entre los cuales se encuentran las patologías descritas anteriormente). Se piensa que determinados factores de riesgo tradicionales (bajo peso corporal, tabaquismo, alcoholismo, uso de corticoides o la deficiencia de vitamina D) pueden interactuar con aquellos factores relacionados con la infección del propio virus, siendo uno de ellos la cronificación del estado proinflamatorio (1).

Sin embargo, y a pesar de que existe controversia en este aspecto, la exposición de los pacientes al ART también podría influir en los efectos del VIH en cuanto a la reducción de la densidad de la masa ósea. Existen autores que defienden la afirmación descrita para todos los tipos de tratamientos antirretrovirales disponibles en la actualidad. Al mismo tiempo, existen otros que también comparten esta postura, pero con ciertos matices. Estos últimos defienden que el tratamiento antirretroviral de inhibición de proteasas, a diferencia de otros ART existentes, confiere una protección a mujeres que padecen esta infección. Por su parte, otros grupos defienden que el ART puede conferir un papel protector al paciente VIH⁺ (1). Así pues, sería necesario poder llevar a cabo estudios que permitan profundizar en este aspecto, con la finalidad de proporcionar conocimiento y posibles soluciones para la mejora de la calidad de vida de estos pacientes.

Ahora bien, una de las variables que sí se ha visto que tiene influencia en la pérdida de masa ósea en mujeres VIH⁺ es la menopausia. Es en esta etapa donde tiene lugar una disminución de la síntesis y liberación de estrógenos. Este hecho podría afirmar la mayor propensión de las mujeres infectadas a padecer problemas con la masa ósea en comparación a los hombres VIH⁺ (1).

Por otra parte, cabe mencionar que una de las variables que parece ser independiente de la disminución descrita es la edad, puesto que también se observa como niños y adolescentes VIH⁺ sufren cambios en su densidad ósea. Para este grupo de pacientes, se correlaciona la disminución de masa ósea y del contenido de minerales óseos con la exposición al ART, especialmente cuando esta es prolongada. Esto es de gran importancia, puesto que estos pacientes pueden desarrollar complicaciones tempranas, pudiendo afectar a su correcto crecimiento y desarrollo (11).

1.1.2 Justificación del trabajo

Este trabajo de fin de máster pretende aportar conocimiento sobre la temática en cuestión, además de plantear posibles soluciones que puedan mejorar la calidad y esperanza de vida de pacientes VIH⁺ expuestos al ART. Estas soluciones pueden abarcar tanto nuevos hábitos de vida diaria como posibles estrategias a nivel bioquímico. Se espera que todas ellas, de forma conjunta, puedan ayudar a lograr estas metas en un futuro.

Se recurre al análisis estadístico multivariante como principal estrategia de trabajo. De hecho, este será uno de los principales ejes sobre el cual se desarrollará este proyecto. Como principal herramienta de trabajo, se utiliza el lenguaje de programación *R*, mediante el editor amigable de programación *RStudio*. Al ser de tipo *open source*, permite tener disponibles todo un amplio conjunto de paquetes que permiten aplicar diferentes metodologías estadísticas multivariantes, motivo por el cual se ha elegido este editor y no otro para llevar a cabo este proyecto.

Es de gran importancia que los resultados que se vayan obteniendo a lo largo de éste sean reproducibles. Por tanto, se recurre al formato *Rmarkdown* (*.Rmd*) para generar los informes estadísticos correspondientes. Este formato permite compartir tanto el código escrito como los resultados obtenidos con una alta calidad, lo cual beneficia su reproducibilidad. Igualmente, permite agilizar la actualización de los cambios que se produzcan durante el desarrollo del trabajo (12).

1.2 Objetivos del Trabajo

Con la finalidad de aportar nuevo conocimiento y de plantear posibles soluciones que mejoren la calidad y esperanza de vida de pacientes VIH⁺, se pretende:

- Estudiar, desde una perspectiva bioquímica, los cambios que acontecen a nivel fisiológico y metabólico en este tipo de pacientes.
- Aprender toda una serie de técnicas de análisis de datos (*machine learning*) que permitan dar respuesta a la problemática descrita.
- Determinar, mediante métodos de análisis estadístico multivariante, aquellas variables (o combinación de ellas) que expliquen la distribución anormal de masa grasa, masa magra y/o ósea que padecen los pacientes VIH⁺. Todo esto aplicado sobre una base de datos con mediciones DEXA longitudinales.
- Aportar posibles soluciones para la mejora de la calidad y esperanza de vida de pacientes VIH⁺ (en base a los resultados obtenidos).

1.3 Planificación del Trabajo

1.3.1 Descripción

A continuación, se detalla el plan de trabajo que se ha implementado en este proyecto de fin de máster.

1.3.1.1 Estudio bibliográfico de la problemática a resolver (fase 1)

- *Utilización de PubMed y Google Scholar como principales motores de búsqueda bibliográfica.* PubMed es uno de los buscadores de publicaciones relacionadas con la investigación biomédica más utilizadas a nivel internacional, características que encajan con el enfoque de este proyecto. Por su parte, *Google Scholar* permite complementar de forma eficaz las búsquedas realizadas con el primero. Su capacidad de encontrar artículos de investigación biomédica y de encontrar libros publicados sobre la temática a tratar son sus dos principales bazas.
- *Creación de diagramas de flujo que ilustren de forma dinámica cómo se ha llevado a cabo la búsqueda bibliográfica.* Se detallan las palabras clave utilizadas, el número de resultados obtenidos por cada búsqueda y los criterios de selección de publicaciones, entre otros. Para ello, se utilizará el software *open source Dia*.
- *Utilización de Mendeley como gestor bibliográfico de los artículos y libros seleccionados durante la búsqueda bibliográfica.* El motivo por el cual se selecciona este gestor y no otros es debido a su facilidad de uso y gran versatilidad (capacidad de gestionar bibliografía por carpetas desde el mismo escritorio o desde el propio navegador, incluyendo además una extensión para este último que facilita la recopilación de publicaciones).
- *Redacción de un borrador de la introducción para la memoria del proyecto.* Se confecciona de forma definitiva una vez finalizada la búsqueda bibliográfica (la versión definitiva se incluye en el apartado 1.1.1 de esta memoria).

1.3.1.2 Análisis estadístico multivariante a partir de la base de datos con mediciones DEXA longitudinales (fase 2).

- *Descripción general de las variables pertenecientes a la base de datos DEXA, la cual se ha llevado a cabo desde diferentes perspectivas, detalladas a continuación.*
 - *Definición del tipo de variable (numérica o categórica).*
 - *Descripción de la información que transmite cada una de ellas al usuario.*
 - *Tipo de relación que tiene cada una de las variables DEXA a nivel fisiológico con los pacientes VIH⁺. Dicho de otra forma, cuáles se relacionan con la grasa corporal, cuáles con la masa magra y cuáles con la masa ósea de éstos.*
 - *Establecer aquellas variables que son de interés general (edad, género, IMC, etc.).*
 - *Obtención de los valores estadísticos descriptivos aquellas variables de tipo cuantitativo (media, mediana, valor mínimo, valor máximo, cuartiles, etc.), además de recuento y porcentaje de casos positivos para aquellas variables de tipo categórico (total y %). Dada la evolución que ha ido experimentando el proyecto a lo largo de los meses, únicamente se ha llevado a cabo este procedimiento para determinadas variables relacionadas con el género de los pacientes, con la finalidad de apreciar las diferencias que existen entre pacientes con VIH del género masculino y femenino (ver tabla 1).*
 - *Ver si cada una de las variables cuantitativas presentes sigue o no una distribución normal. Por cuestiones de tiempo, únicamente se ha aplicado el test de Shapiro a todas las variables y se ha descartado el uso de gráficos Qplot y boxplots.*
- *Descripción específica de las variables pertenecientes a la base de datos DEXA.*
 - *Analizar si cada una de las variables que consta la base de datos contienen valores faltantes o perdidos (indicados como NA). En caso afirmativo, observar para los casos positivos qué porcentaje de estos se encuentran presentes y valorar si es necesario o no suprimir aquellas filas que contienen datos faltantes.*
 - *Analizar si existen o no filas que contienen algún tipo de erratas. Este análisis es importante, pues pueden influir en los resultados estadísticos que se obtengan. Hay que destacar que no ha sido necesario realizar esta tarea, pues no se han apreciado filas de este tipo.*
 - *Crear subdataframes en función de la clasificación de variables descrita anteriormente. Inicialmente, se describió la creación de tres subdataframes, en base a los tipos de mediciones DEXA presentes en la base de datos (concretamente, *fat.data*, *lean.data* y *bone.data*). Dada la evolución que ha ido experimentando el proyecto, se ha procedido a la creación de subdataframes en base a la descripción que se detalla en el apartado *Materiales y métodos*.*

- *Análisis estadístico multivariante sobre cada uno de los subdataframes nombrados anteriormente.* Este ha sido uno de los puntos donde más cambios se han llevado a cabo respecto al plan de trabajo previamente planteado.
 - Inicialmente, se planteó el uso del *Análisis de Componentes Principales (PCA)* con el objetivo de observar la correlación que existe entre aquellas variables de carácter general (edad, género, etc.) y aquellas relacionadas con la distribución anormal de masas. Sin embargo, este método estadístico multivariante se ha utilizado para la clasificación de los pacientes pertenecientes a la base de datos DEXA en función de su estado patológico. Esto ha permitido obtener una mayor cantidad de información clínica, la cual ha ayudado a comprender los resultados y a asentar las conclusiones finales obtenidas.
 - Para determinar la correlación entre variables de carácter general y variables relacionadas con mediciones DEXA, se ha recurrido al uso del *Análisis de Correlaciones Canónicas*. Este método estadístico multivariante permite determinar la correlación entre diversas variables dependientes y diversas variables independientes continuas (13).
 - Por su parte, se planteó el uso del *Análisis de Coinercia Múltiple (MCIA)* como método multivariante de *análisis exploratorio longitudinal*, con el objetivo de *conocer las correlaciones entre múltiples conjuntos de datos de alta dimensión*. Finalmente se recurrió al uso del *Análisis Multifactorial (MFA)* para ejecutar el análisis descrito, debido a que permite obtener los mismos resultados con una mayor facilidad de uso, además de pertenecer a la librería *FactoMineR* antes mencionada.
 - Por último, se ha descartado la construcción de *modelos GGM (Graphical Gaussian Models)* para la búsqueda de asociaciones mediante correlación parcial. Esta decisión se debe a que el *PCA*, el *Análisis de Correlaciones Canónicas* y el *Análisis Multifactorial* han permitido cumplir los objetivos descritos anteriormente.
- *Redacción del borrador de los apartados “Resultados” y “Discusión”; comparación de estos con lo obtenido de la búsqueda bibliográfica en la fase 1.*

1.3.1.3 Planteamiento de posibles soluciones que permitan mejorar la calidad y esperanza de vida de pacientes VIH, en base al estudio estadístico multivariante implementado en la fase 2.*

- La metodología que se ha llevado a cabo en esta fase es la misma que se detalla para la fase 1, a excepción del diagrama de flujo descrito.

1.3.1.4 Redacción de la memoria del Trabajo de Fin de Máster y elaboración de la presentación para su posterior exposición ante el tribunal.

1.3.2 Diagrama de Gantt

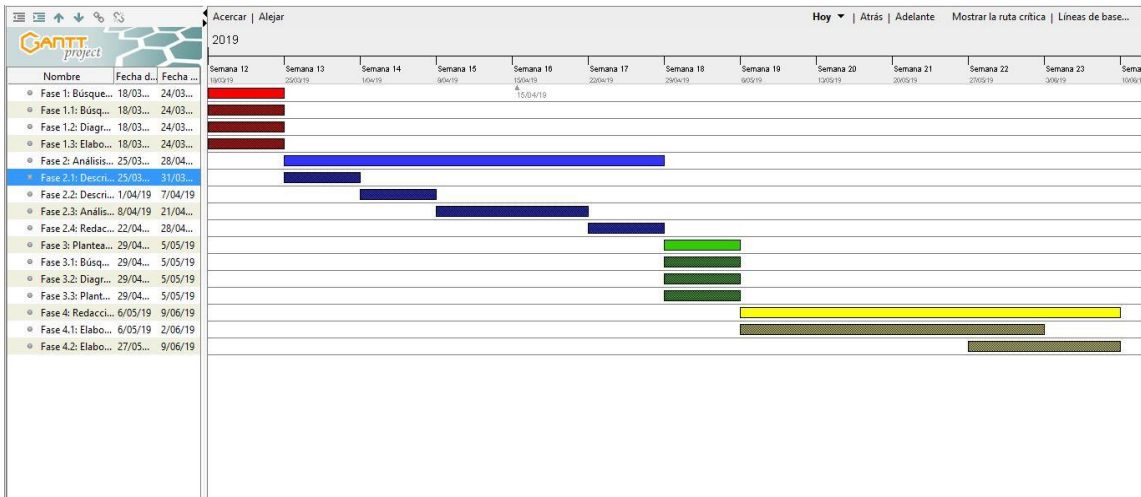


Figura 1: Diagrama de Gantt con la distribución temporal de las tareas pertenecientes a cada fase del proyecto de fin de máster llevado a cabo.

1.4 Hitos y productos

Los productos adjuntos como material complementario se enumeran a continuación:

- Código R compilado y utilizado para la ejecución de los diferentes métodos estadísticos multivariantes (*PROCED_1.RMD*).
- Informe Rmarkdown del código compilado en formato HTML (*PROCED_1.HTML*).
- Informe Rmarkdown del código compilado en formato PDF (*PROCED_1.PDF*).
- Memoria del proyecto final de máster, redactado en formato .DOCX (*ANALIS_1.DOCX*).
- Memoria del proyecto final de máster, redactado en formato .PDF (*ANALIS_1.PDF*).
- Presentación del proyecto final de máster, creado en formato .PPTX (*ANALIS_1.PPTX*).
- Diagrama de flujo con las palabras clave utilizadas para la búsqueda bibliográfica descrita para la fase 1 (*Metodología búsqueda bibliográfica (fase 1).png*).

1.5 Breve descripción de los otros capítulos de la memoria

A continuación, se describen brevemente los contenidos de cada capítulo y la relación de cada uno de ellos con el trabajo a nivel global.

- *Materiales y métodos:* Descripción detallada de los materiales utilizados para llevar a cabo la búsqueda bibliográfica. También se explican las estrategias a las cuales se ha recurrido para la ejecución del estudio estadístico multivariante longitudinal. Por su parte, se incluyen los fundamentos de cada uno de los métodos estadísticos.
- *Resultados:* Presentación de los resultados obtenidos tras el estudio estadístico multivariante longitudinal, mediante tablas e ilustraciones.
- *Discusión:* Tomando como base la búsqueda bibliográfica y el estudio estadístico multivariante, se plantean los diferentes motivos que expliquen las observaciones obtenidas y la relación que existen entre ellas.
- *Conclusión:* Apartado que permite la cohesión del conjunto de partes del proyecto llevado a cabo.
- *Bibliografía:* Se describen los recursos bibliográficos utilizados para llevar a cabo este proyecto de fin de máster.

2. Materiales y métodos

2.1 Búsqueda bibliográfica

El análisis del estado del arte se ha llevado a cabo utilizando *PubMed* y *Google Scholar* como principales motores de búsqueda, utilizando las palabras clave que se detallan en el apartado *Anexo*. La selección de los artículos de interés ha sido en base a la lectura del abstract y adecuación del tema tratado con los objetivos descritos anteriormente.

2.2 Software estadístico

Para la ejecución de los diferentes métodos estadísticos multivariantes, se ha recurrido al lenguaje de programación *R* (versión 3.5.1) (14), bajo el entorno de programación *RStudio* (versión 1.1.456) (15).

2.3 Base de datos DEXA

La base de datos utilizada durante el estudio estadístico contiene un total de 4319 registros de 1475 pacientes VIH⁺, de los cuales 3310 pertenecen a hombres y 1009 pertenecen a mujeres. Dichos registros se distribuyen en 80 variables de tipo categórico y cuantitativo, las cuales proporcionan información clínica de diferente tipo (concretamente, la edad del paciente, la fecha de toma de la medición DEXA, mediciones DEXA relacionadas con la masa grasa y magra de las extremidades y el tronco, mediciones del mismo tipo referentes a la masa ósea de la columna lumbar, cuello del fémur, triángulo de Ward y trocánter y ratios fisiológicas y cantidades totales en base a las mediciones tomadas). Además, se han añadido variables relacionadas con las características fisiológicas y patológicas de los pacientes, en base a las variables antes mencionadas (baja calidad y cantidad de masa magra, lipodistrofia, valor mínimo de la puntuación T Score y clasificación de pacientes según el valor mínimo descrito).

No todas las variables continuas que forman parte de esta base de datos siguen una distribución normal, tras obtener en todos los test de *Shapiro* ejecutados un *p-valor* inferior al 0.05 (CI = 95%).

2.4 Control de calidad de la base de datos DEXA

De forma previa al estudio estadístico, se ha procedido a comprobar el porcentaje de valores omisos que contiene la base de datos (el cual es inferior al 5%). Además, se ha comprobado que los valores de las ratios concuerden con las correspondientes mediciones DEXA. Por su parte, se ha analizado la presencia de valores extremos en la base de datos, siendo su presencia muy minoritaria en determinadas variables (en el resto no se observan este tipo de valores).

2.5 Análisis estadístico descriptivo

2.5.1 Procedimiento

Para la ejecución del análisis descrito, se ha procedido a segregar los registros de pacientes en función del género, obteniendo así dos nuevos subconjuntos de datos: uno con pacientes de género masculino y otro con pacientes de género femenino.

Por otra parte, se ha creado una tabla resumen con datos estadísticos descriptivos para hombres y mujeres VIH⁺ (medianas y cuartiles para las variables continuas y recuento y porcentaje de casos positivos para las variables categóricas - ver tabla 1). De forma complementaria, se ha ejecutado un test de independencia *Chi-cuadrado* para el género de los pacientes y su clasificación en diferentes categorías de Índice de Masa Corporal (ver ilustración 1), donde se obtiene un *p-valor* inferior al 0.05 que indica la dependencia del sexo y el IMC.

2.5.2 Prueba de Chi-cuadrado

El *test Chi-cuadrado* es un método estadístico univariante que permite conocer si dos variables cualitativas son o no independientes entre ellas (hipótesis nula y alternativa, respectivamente). Para ello, se toman como medidas de muestreo aleatorio simple las frecuencias observadas para cada clase. De esta forma, la hipótesis nula se cumple si el conjunto de frecuencias contrastado sigue una distribución binomial. En caso contrario, se descarta la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa (16).

2.5.3 Ejecución en R

En primer lugar, se crea una tabla de frecuencias relacionado con las variables *género* y *clasificación de IMC*, utilizando para ello la función *table*. Con el resultado obtenido, se ejecuta el correspondiente test de independencia, mediante la función *chisq.test*. Por último, y como forma de representar los resultados estadísticos, la función *assoc* (librería *vcd*) se aplica a la misma tabla de frecuencias obtenida (17).

2.6 Clasificación de pacientes en función de su estado patológico

2.6.1 Procedimiento

Tomando como base los subconjuntos de datos del anterior apartado, se ha procedido a seleccionar aquellas variables relacionadas con las mediciones DEXA de la masa ósea y la masa magra, además de las variables relacionadas con aspectos fisiológicos y patológicos del paciente. El objetivo ha sido clasificar a los pacientes en función de su estado patológico (concretamente, lipodistrofia o no lipodistrofia), proceso por el cual se extraen mejores conclusiones clínicas al utilizar las mediciones descritas.

Este proceso se ha llevado a cabo recurriendo al uso del *Análisis de Componentes Principales (PCA)*, utilizando tanto la función *prcomp* en R para los cálculos estadísticos como la librería *FactoMineR* para la representación gráfica de los resultados (ver ilustraciones 2 y 3). A partir de estos últimos, se ha procedido a la creación de una tabla de frecuencias patológica, donde se ilustra el porcentaje de pacientes que se encuentran en un estado patológico normal, el porcentaje de aquellos que no padecen lipodistrofia pero que sí una reducida masa magra y ósea, el porcentaje de aquellos que padecen lipodistrofia con una cantidad de masa magra y ósea normal y, por último, el porcentaje de aquellos que padecen lipodistrofia junto a una reducida masa magra y ósea (ver tablas 2 y 3).

2.6.2 Análisis de Componentes Principales

El Análisis de Componentes Principales (*Principal Component Analysis* – PCA) es un método estadístico multivariante que tiene como finalidad describir un conjunto de variables utilizando un número menor de dimensiones, sin por ello perder información relevante durante el proceso. Dichas dimensiones reciben el nombre de *componentes principales*, cada una de las cuales explica un determinado porcentaje de la información contenida en dichas variables. Así pues, se espera que las primeras componentes expliquen una proporción sustancial de la variación de las variables originales (18).

Cabe destacar las bases algebraicas de las *componentes principales*. En este sentido, la primera se define como la combinación lineal de las variables originales, cuya varianza muestral es mayor entre todas las combinaciones lineales posibles. Por su parte, la segunda también resulta de la combinación lineal de dichas variables, representando en este caso una proporción máxima de la varianza restante y no estando correlacionada con la primera. La interpretación de las siguientes componentes se lleva a cabo de forma similar (18).

2.6.3 Ejecución en R

En primer lugar, se aplica la función *prcomp* para la obtención de las componentes principales, especificando los parámetros *center* y *scale* como *TRUE* (19). En este paso, se especifica que la función realice los cálculos en base a las variables relacionadas con el total de masa magra y con el total de densidad de masa ósea global, además del total de densidad ósea del cuello del fémur y el total de puntuaciones T y Z del mismo. La selección de todas las variables referentes a la masa magra y ósea no ha sido posible, pues no facilita la interpretación gráfica de los resultados.

De los resultados obtenidos, se visualiza gráficamente el porcentaje de información que contiene cada componente. Por último, la representación gráfica se ha llevado a cabo mediante la función *PCA* de la librería *FactoMineR*, seleccionando las mismas variables mencionadas. Como parámetros, se ha especificado que se tomen los datos de las dos primeras componentes principales (*nbp = 2*) y que los resultados se escalen a la varianza de la unidad (*scale.unit = TRUE*) (20).

2.7 Análisis de correlaciones canónicas

2.7.1 Procedimiento

Con el objetivo de estudiar si existen correlaciones entre las variables que caracterizan a los pacientes VIH⁺ de la base de datos y la distribución anormal de sus masas, se ha recurrido al método multivariante de *Análisis de Correlaciones Canónicas* (CCA).

Previamente a la aplicación del método estadístico, se han creado tres subconjuntos de registros, en función de si las variables independientes hacen referencia a la masa grasa, a la masa magra o a la masa ósea. Para el primer grupo de variables independientes, se han seleccionado aquellos registros de pacientes con lipodistrofia; para el segundo, aquellos registros de pacientes con osteopenia; para el tercero, aquellos registros de pacientes con sarcopenia. Posteriormente, para cada subconjunto, se han seleccionado las variables dependientes (edad, peso, altura, IMC, puntuación mínima T y género) y las variables independientes (para la masa grasa, la cantidad y porcentaje de ésta para las extremidades superior e inferior; para la masa ósea, la densidad ósea y la puntuación T y Z de las diferentes secciones de la columna lumbar; para la masa magra, la cantidad y porcentaje de ésta para las mismas regiones que en el caso de la masa grasa).

Una vez seleccionadas las variables, se han utilizado las librerías *fields* y *CCA* para la aplicación del CCA en *RStudio*, contrastando cada conjunto de variables independientes con las dependientes ya descritas.

2.7.2 Análisis de Correlaciones Canónicas

El Análisis de Correlaciones Canónicas (*Canonical-Correlation Analysis – CCA*) es un método estadístico multivariante que permite determinar la correlación multidimensional entre diversas variables dependientes y diversas variables independientes continuas. Para ello, esta metodología se basa en la aplicación de funciones canónicas que permiten maximizar la correlación lineal entre los conjuntos de variables descritos (13).

La representación gráfica que se obtiene tras la aplicación de este método es de tipo bidimensional, distribuyéndose en el mismo espacio tanto las variables dependientes como las independientes. De este modo, se puede apreciar de forma simultánea la correlación que existe entre variables a nivel individual y la correlación entre conjuntos de variables.

2.7.3 Ejecución en R

Mediante la función *select* (librería *jmvcore*) se procede a la creación de *subdataframes* con diversas variables dependientes e independientes, en función del tipo de masa a analizar. es muy importante que los *subdataframes* que se creen para la aplicación del método estadístico tengan el mismo número de variables o columnas, puesto que el método podría dar error durante su ejecución (21).

Posteriormente, la función *matcor* (librería *CCA*) se utiliza para el cálculo de las matrices de correlación entre un *subdataframe* con variables dependientes y otra con variables independientes. Con el resultado obtenido, se analiza la correlación canónica que existe entre estos dos, utilizando las funciones *cc* y *plot.cc* (librería *CCA* y *fields*, respectivamente) (22).

2.8 Estudio estadístico multivariante longitudinal

2.8.1 Procedimiento

Con la finalidad de observar la influencia del efecto tiempo entre diferentes conjuntos de variables de la base de datos, se ha aplicado el método multivariante de Análisis Multifactorial, utilizando la función *MFA* de la librería *FactoMineR*. Concretamente, se pretende analizar la correlación entre el tiempo de progreso de la enfermedad con el conjunto de variables relacionadas con las características de los pacientes, además del conjunto referente a las mediciones DEXA de la masa grasa, masa ósea y masa magra. Por tanto, el total de conjuntos a contrastar con el efecto tiempo es equivalente a 4.

Al analizar las frecuencias de mediciones por paciente, se ha observado un elevado número de pacientes con muy pocas mediciones longitudinales, y viceversa. Con el objetivo de encontrar un equilibrio adecuado entre el número de pacientes disponibles para el estudio y el número de mediciones longitudinales por paciente, se ha procedido a identificar y seleccionar aquellos que contienen 5 mediciones DEXA en el tiempo.

Posteriormente, se han escogido aquellos pacientes cuyas mediciones se encuentren entre los 35 y los 55 años de edad. Este criterio metodológico responde a dos motivos. En primer lugar, debido a que es donde más pacientes filtrados se encuentran y, en segundo lugar, debido a que es un intervalo de tiempo que permite visualizar los cambios fisiológicos a largo plazo que experimentan los pacientes VIH⁺ de la base de datos.

Con el resultado obtenido tras el filtrado de pacientes, se crean grupos de variables para ser contrastados con el método en cuestión, creándose de esta forma los siguientes conjuntos: *conjunto 1: variables relacionadas con las características generales de los pacientes con VIH (total = 4)*, *conjunto 2: variables relacionadas con las mediciones DEXA de la masa grasa (total = 16)*, *conjunto 3: variables relacionadas con las mediciones DEXA de la masa magra (total = 8)*, *conjunto 4: Variables relacionadas con las mediciones DEXA de la masa ósea (total = 30)*.

2.8.2 Análisis Multifactorial

El Análisis Multifactorial (*Multifactorial Analysis – MFA*) es un método estadístico multivariante que permite conocer la relación que existe entre conjuntos de variables de diferente tipo, los cuales pueden ser de tipo cuantitativo, cualitativo, escalado o de frecuencia. Este método también es de utilidad para equilibrar la influencia de cada grupo de variables, además de estudiar los enlaces que existen entre ellos (23).

2.8.3 Ejecución en R

Previamente a la aplicación del análisis multifactorial, es necesario crear un *subdataframe* que albergue todas las variables relacionadas con los conjuntos de datos descritos, además de convertir en factoriales aquellas que tengan que ser consideradas como tal. Es importante que todas ellas tengan un orden establecido, pues la función *MFA* (librería *FactoMineR*) considerará los grupos de variables en base a los intervalos que el usuario establezca mediante el parámetro *group*. Por ejemplo, en el informe *Rmarkdown* incluido en el apartado *Anexo* se establecen los intervalos 1, 4, 16, 8 y 30. Esto significa que la variable 1 del *subdataframe* corresponde al primer conjunto, las cuatro siguientes variables corresponden al segundo conjunto, las dieciséis siguientes corresponden al tercer conjunto, las ocho siguientes al cuarto y las treinta últimas al quinto (24).

Tras realizar la organización de datos descrita, es necesario establecer qué tipo de variables contienen cada uno de los conjuntos mencionados. Mediante el parámetro *type*, se especifica que el primer, tercer, cuarto y quinto conjunto contienen variables de tipo continuo (*type="c"*), mientras que el segundo contiene variables de tipo categórico (*type="n"*) (24).

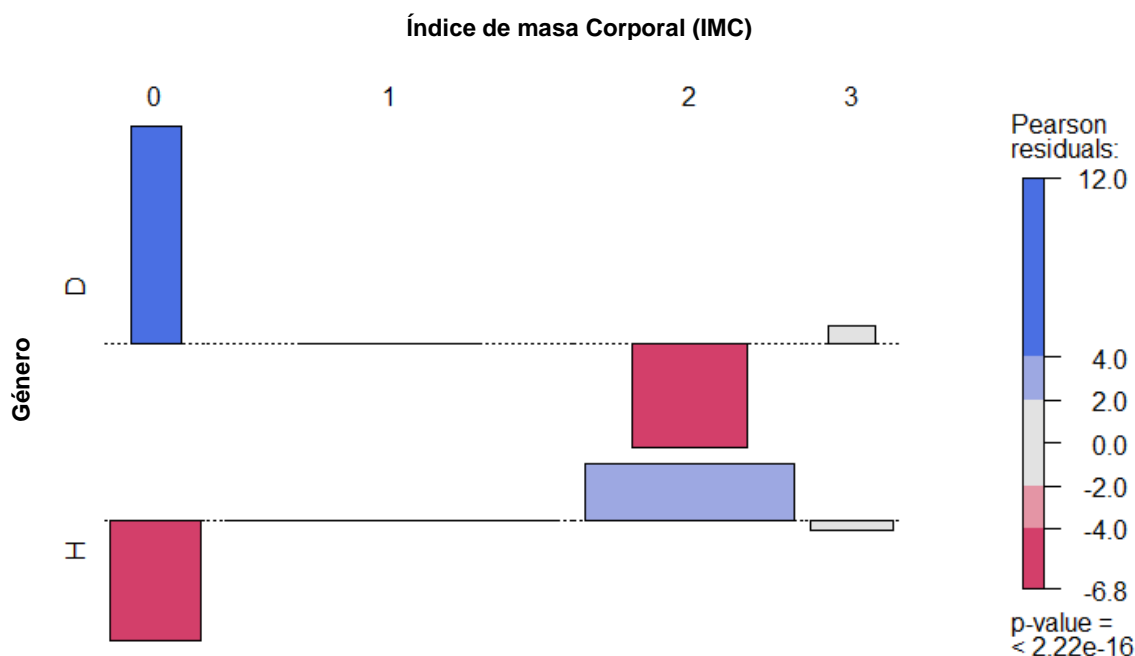
3. Resultados

3.1 Análisis estadístico descriptivo

Tabla 1: Análisis estadístico descriptivo para las principales variables que definen las características de los pacientes VIH+ de la base de datos DEXA (en función del género).

| | Hombres con VIH (n=3310) | Mujeres con VIH (n=1109) |
|---|--------------------------|--------------------------|
| Edad | 44.47 (38.16-51.8) | 45.21 (39.14-51.47) |
| Categoría IMC | | |
| • <i>Peso bajo (0)</i> | 2.3% (76) | 13.58% (137) |
| • <i>Peso normal (1)</i> | 64.89 % (2148) | 64.82% (654) |
| • <i>Sobrepeso (2)</i> | 28.91% (957) | 16.55% (167) |
| • <i>Obesidad (3)</i> | 3.87% (128) | 4.76% (48) |
| Cantidad y calidad de masa magra reducida | 100% (3310) | 100% (1109) |
| Lipodistrofia | 75.29% (2492) | 69.47% (701) |

Ilustración 1: Gráfico de asociaciones para el test de independencia Chi-cuadrado llevado a cabo entre el género de pacientes VIH+ de la base de datos DEXA y las diferentes categorías de IMC



La tabla 1 expone las características generales de los pacientes VIH+ del estudio estadístico, los cuales presentan medianas de edad muy similares. Mencionar la baja calidad y cantidad de masa muscular que presentan todos ellos, además de los elevados porcentajes de casos positivos de lipodistrofia. Pese a este último apunte, muchos de ellos se encuentran en un estado de normopeso, evidenciando así la distribución anormal de masa grasa que presentan. Por último, destacar la dependencia que existe entre el género del propio paciente y su categorización en base a su Índice de Masa Corporal (IMC), siendo 0 el más bajo y 3 el más elevado.

3.2 Análisis de Componentes Principales (PCA)

3.2.1 Pacientes con VIH de género masculino

Ilustración 2A: Análisis de Componentes Principales de los varones VIH+ (clasificación patológica)

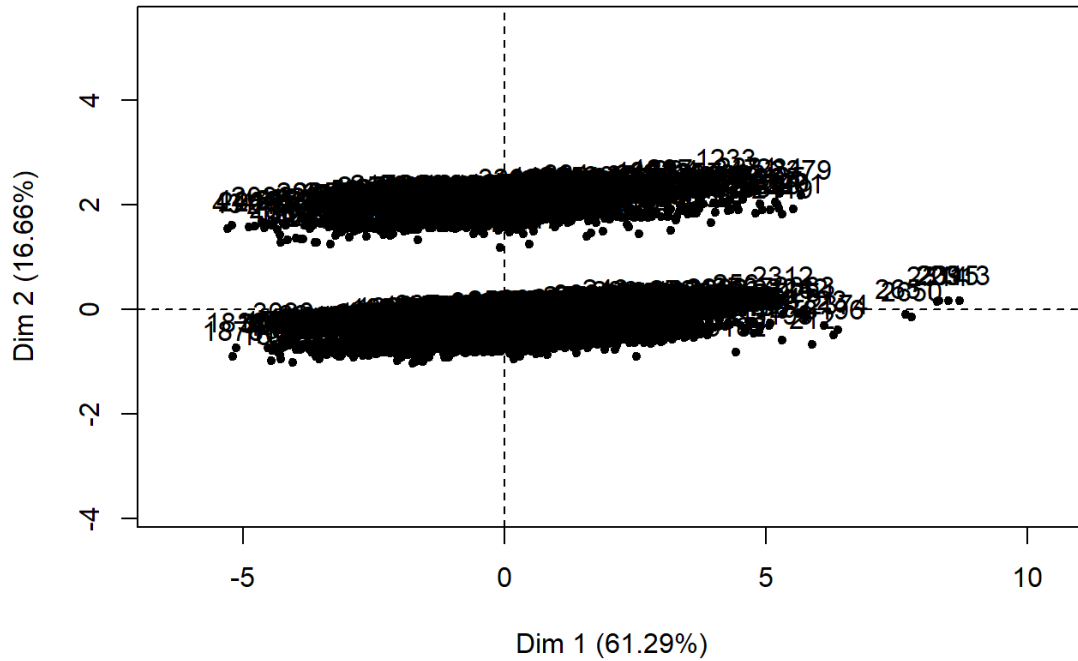
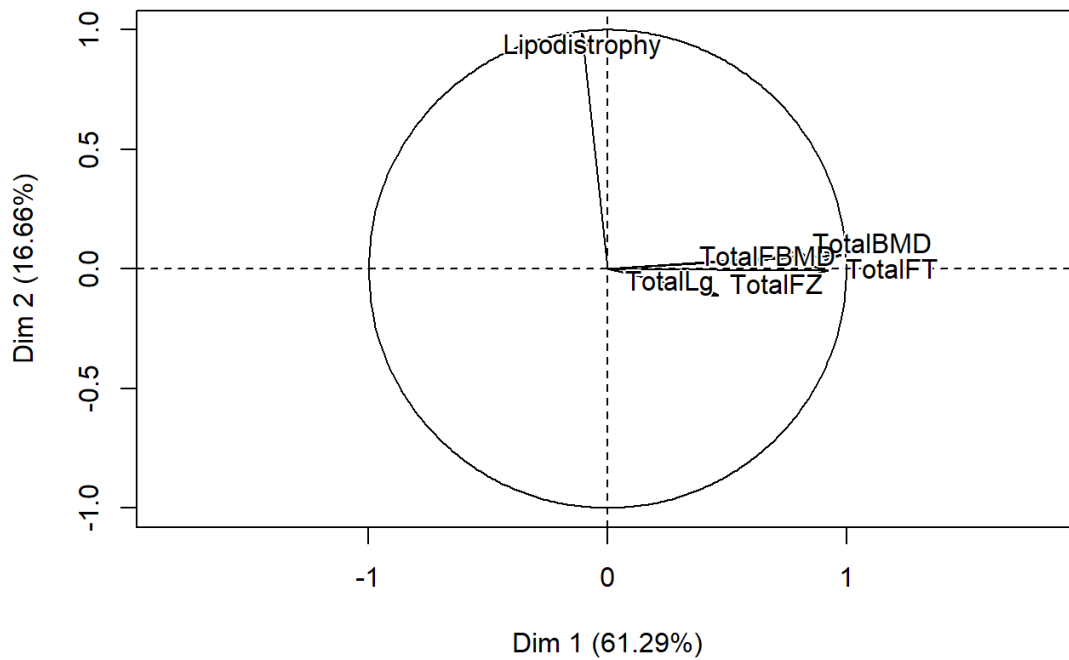


Ilustración 2B: Análisis de Componentes Principales de los varones VIH+ (correlación de variables)



Las ilustraciones 2A y 2B muestran como valores negativos de la componente principal 1 se asocian con valores reducidos de las variables relacionadas con la masa total ósea y magra, mientras que valores negativos de la componente principal 2 se relacionan con casos de lipodistrofia en pacientes varones VIH⁺ (debido a que los casos positivos de esta patología se indican en la base de datos como 0 para la variable informativa de lipodistrofia, al contrario que los casos negativos, indicados como 1 para la misma). Por tanto, aquellos pacientes varones que se sitúan en la parte inferior de la gráfica padecen lipodistrofia y, además, los que se sitúan en la región inferior izquierda lo padecen junto a una masa ósea y magra reducida.

Las ilustraciones descritas presentan una buena calidad de resultados estadísticos. La componente principal 1 da explicación al 61.29% de la información alojada en las variables seleccionadas. Asimismo, la clasificación de los pacientes en lipodistróficos y no lipodistróficos a nivel gráfico se encuentra bien diferenciado, creando un resultado similar al que se podría obtener con métodos de *clustering*.

Tabla 2: Tabla de frecuencias patológica de los varones VIH⁺ de la base de datos DEXA (en base al análisis de componentes principales relacionado con la ilustración 2A y 2B).

| | No lipodistróficos | Lipodistróficos | |
|-----------------------------------|--------------------|-----------------|---------------|
| Masa magra y ósea normal | 15.22 % (483) | 36.98% (1173) | 52.2 % (1656) |
| Masa magra y ósea reducida | 9.59 % (304) | 38.25% (1214) | 47.84% (1518) |
| | 24.81% (787) | 75.23% (2387) | 100 % (3174) |

La tabla 2 muestra como 1214 pacientes varones VIH⁺ padecen tanto lipodistrofia como una baja masa ósea y magra, lo cual supone un 38.25 % del total de hombres pertenecientes al estudio. Además, si no se considera la masa ósea y magra, el número de pacientes varones VIH⁺ que sufren lipodistrofia aumenta hasta el 75.23% (porcentaje muy similar al que se indica en la tabla 1).

Este último porcentaje de pacientes evidencia una acumulación excesiva de su masa grasa en regiones como el abdomen, el tronco o las extremidades. Es importante recalcar esta observación, pues todos ellos tienen riesgo de desencadenar el síndrome metabólico, punto de inicio de la aparición de patologías de carácter cardiovascular.

3.2.2 Pacientes con VIH de género femenino

Ilustración 3A: Análisis de Componentes Principales de las mujeres VIH+ (clasificación patológica)

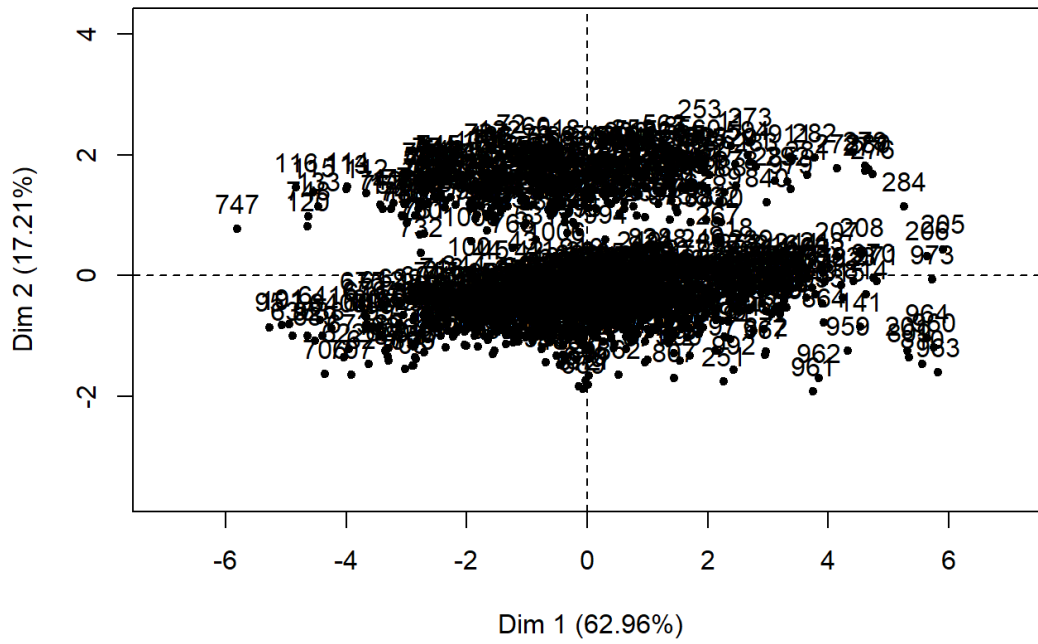
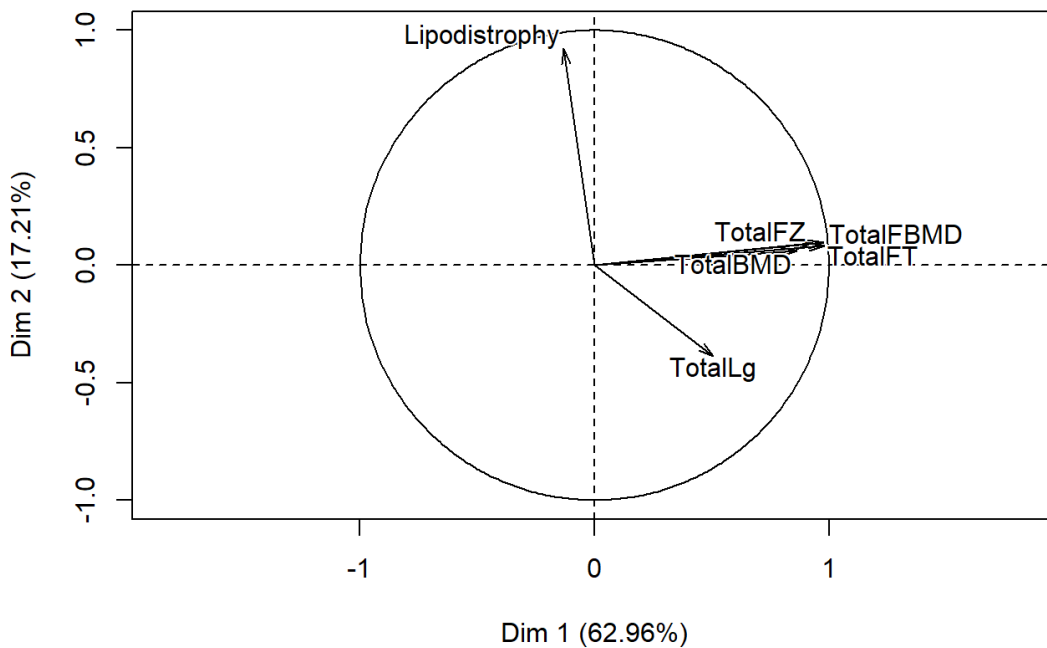


Ilustración 3B: Análisis de Componentes Principales de las mujeres VIH+ (correlación de variables)



Las ilustraciones 3A y 3B muestran como valores negativos de la componente principal 1 se asocian con valores reducidos de las variables relacionadas con la masa total ósea y magra, mientras que valores negativos de la componente principal 2 se relacionan con casos de lipodistrofia en mujeres VIH⁺ (debido a que los casos positivos de esta patología se indican en la base de datos como 0 para la variable informativa de lipodistrofia, al contrario que los casos negativos, indicados como 1 para la misma). Por tanto, aquellas pacientes que se sitúan en la parte inferior de la gráfica padecen lipodistrofia y, además, las que se sitúan en la región inferior izquierda lo padecen junto a una masa ósea y magra reducida.

Tabla 3: Tabla de frecuencias patológica de las mujeres VIH⁺ de la base de datos DEXA (en base al análisis de componentes principales relacionado con la ilustración 3A y 3B).

| | No lipodistróficas | Lipodistróficas | |
|-----------------------------------|--------------------|-----------------|---------------|
| Masa magra y ósea normal | 18.9% (182) | 32.09% (309) | 50.99% (491) |
| Masa magra y ósea reducida | 14.85% (143) | 34.16% (329) | 49.01 % (472) |
| | 33.75 % (325) | 66.25 % (638) | 100 % (963) |

La tabla 3 muestra como 329 mujeres VIH⁺ padecen tanto lipodistrofia como una baja masa ósea y magra, lo cual supone un 34.16 % del total de mujeres pertenecientes al estudio. Además, si no se considera el total de masa ósea y magra, el número de mujeres VIH⁺ que sufren lipodistrofia aumenta hasta el 66.25% (porcentaje muy similar al que se ilustra en la tabla 1).

Se da la misma situación descrita en el caso de los varones VIH⁺. La acumulación excesiva de la masa grasa en regiones como el abdomen, el tronco o las extremidades conlleva a que todas las pacientes con lipodistrofia tengan riesgo de desencadenar el síndrome metabólico, punto de inicio de la aparición de patologías de carácter cardiovascular.

3.3 Análisis de Correlaciones Canónicas

3.3.1 Masa grasa

Ilustración 4A: Análisis de correlaciones canónico para pacientes VIH+ (características generales – rojo – y mediciones DEXA de la masa grasa de los brazos – azul).

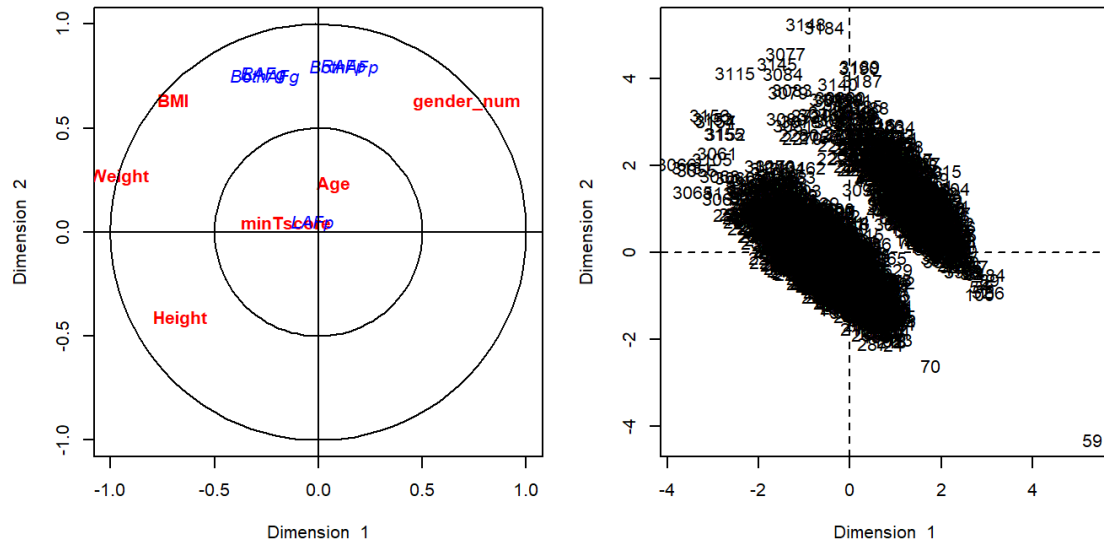
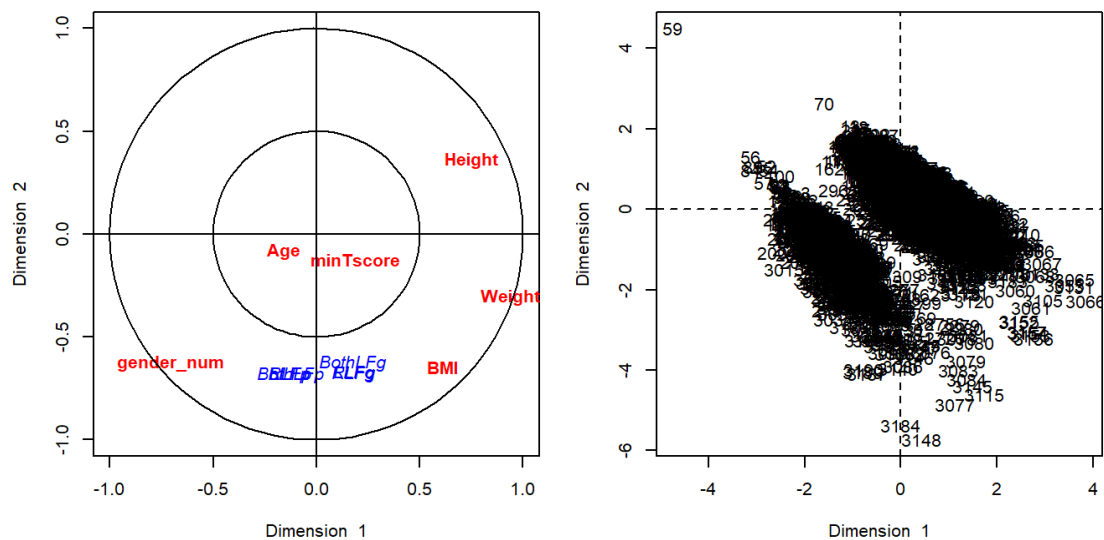


Ilustración 4B: Análisis de correlaciones canónico para pacientes VIH+ (características generales – rojo – y mediciones DEXA de la masa grasa de las piernas – azul).



Las ilustraciones 4A y 4B muestran una asociación de la edad, el género y el Índice de Masa Corporal (*Body Mass Index* - BMI) con las mediciones de masa grasa de pacientes VIH+ que padecen lipodistrofia. Además, si se tiene en cuenta la masa grasa de las extremidades inferiores, se aprecia como el valor mínimo de la puntuación T de las mediciones DEXA se correlaciona con las mediciones de la masa grasa de la región especificada.

3.3.2 Masa ósea

Ilustración 5A: Análisis de correlaciones canónico para pacientes VIH+ (características generales – rojo – y mediciones DEXA de la masa ósea de la columna lumbar (L1 y L2) – azul).

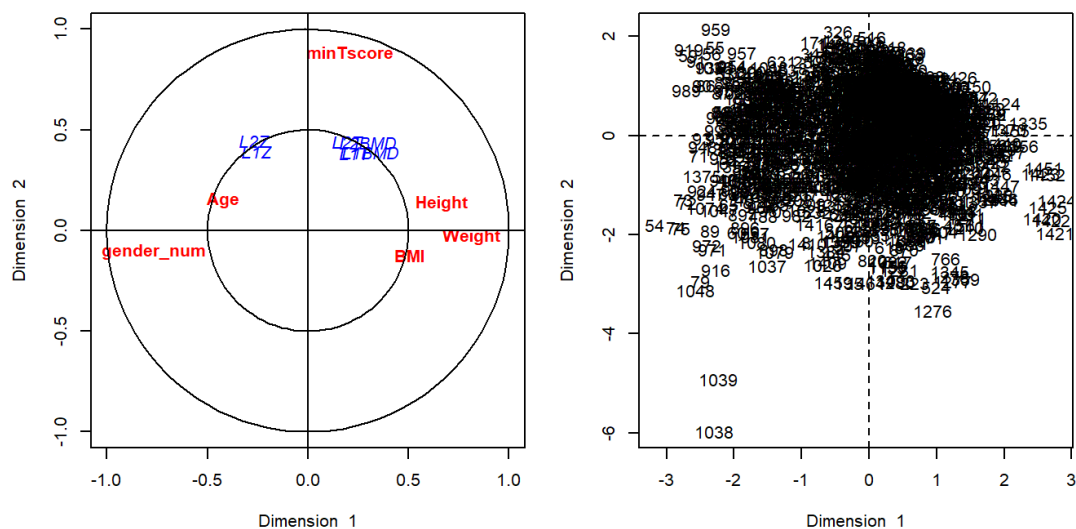


Ilustración 5B: Análisis de correlaciones canónico para pacientes VIH+ (características generales – rojo – y mediciones DEXA de la masa ósea de la columna lumbar (L3 y L4) – azul).

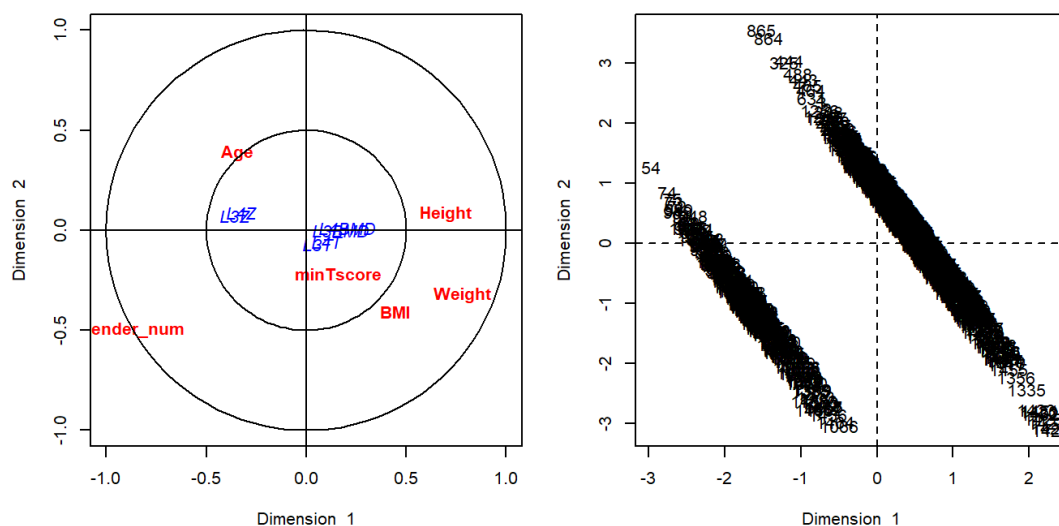
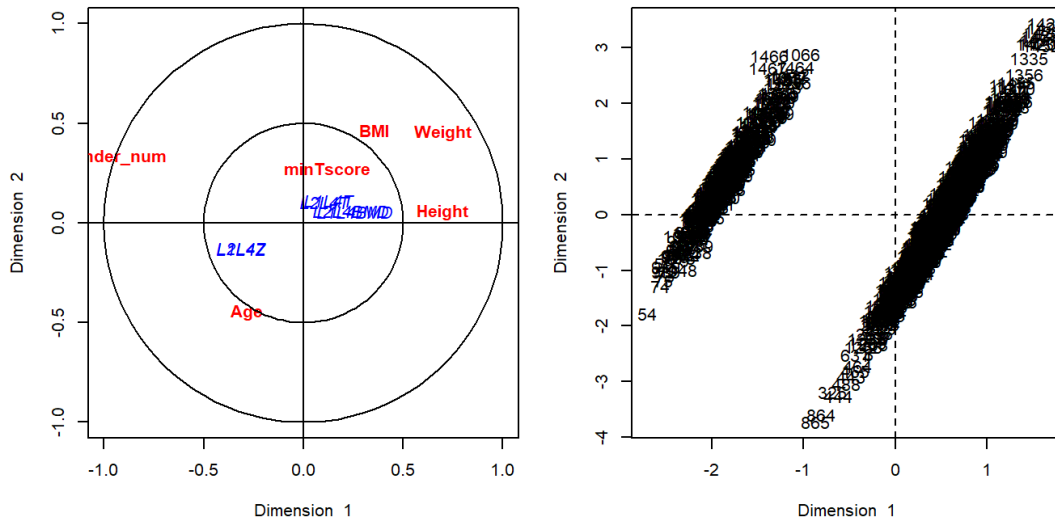


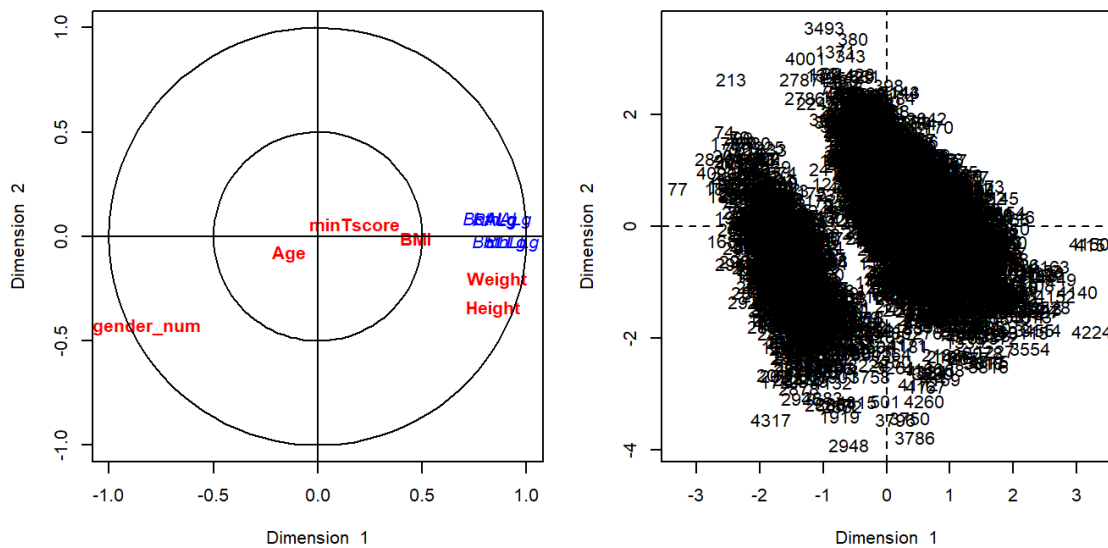
Ilustración 5C: Análisis de correlaciones canónico para pacientes VIH+ (características generales – rojo – y mediciones DEXA de la masa ósea de la columna lumbar (L1L4 y L2L4) – azul).



Los resultados obtenidos en la ilustración 5 muestran una relación de la edad con la puntuación Z de las mediciones DEXA tomadas para la masa ósea en pacientes VIH+ que padecen osteoporosis. Además, se aprecia correlación entre la puntuación mínima T de las mediciones (*minTscore*) y el Índice de Masa Corporal con las puntuaciones T de las propias mediciones para los pacientes mencionados.

3.3.3 Masa magra

Ilustración 6: Análisis de correlaciones canónico para pacientes VIH+ (características generales – rojo – y mediciones DEXA de la masa magra de los brazos y las piernas – azul).



Los resultados obtenidos en la ilustración 6 muestran una correlación del peso y de la altura con las mediciones de masa magra de pacientes VIH+ que padecen una calidad y cantidad de masa magra reducida.

3.4 Análisis estadístico multivariante longitudinal

Ilustración 7A: Análisis longitudinal de los pacientes VIH+ de la base de datos DEXA (correlación entre conjuntos de variables).

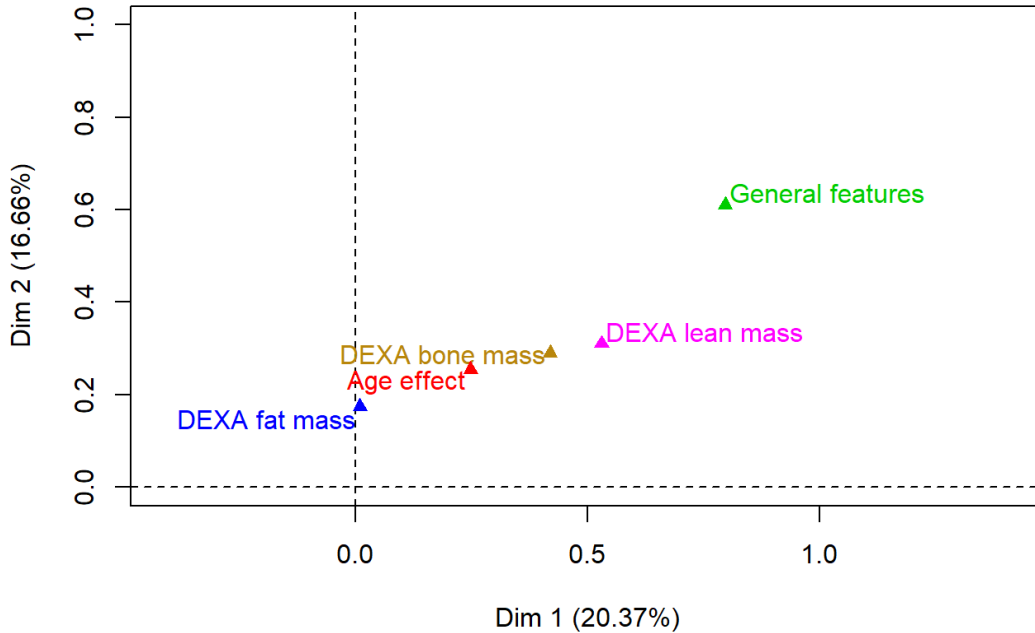


Ilustración 7B: Análisis longitudinal de los pacientes VIH+ de la base de datos DEXA (correlación entre variables).

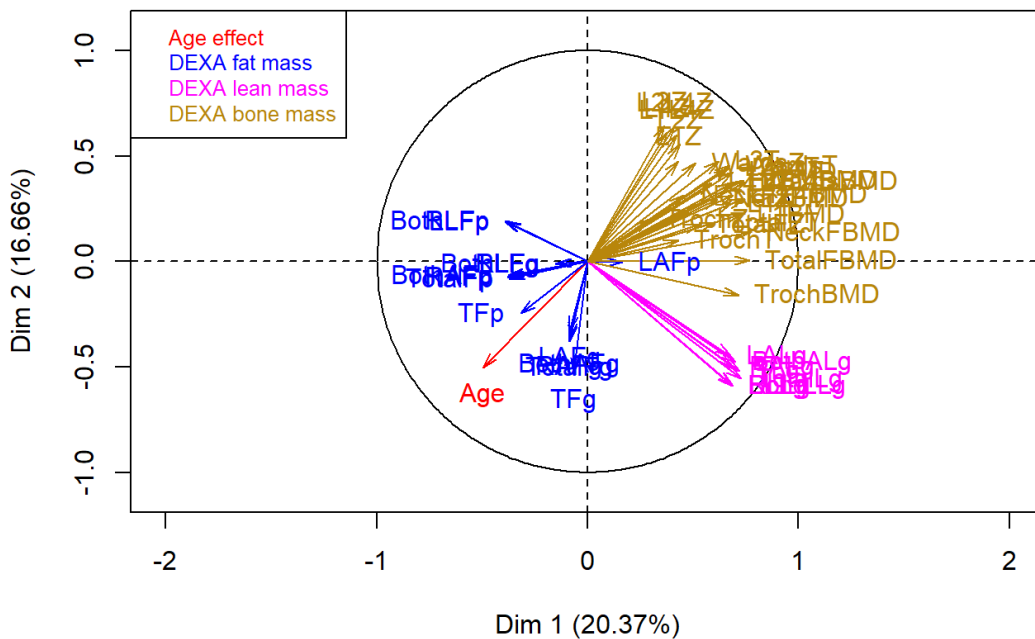


Ilustración 7C: Análisis longitudinal de los pacientes VIH+ de la base de datos DEXA (datos de correlación entre conjuntos de variables).

```
## Groups
##
## Dim.1   ctr   cos2   Dim.2   ctr   cos2   Dim.3
## Age effect      | 0.248 12.373 0.062 | 0.255 15.519 0.065 | 0.017
## General features | 0.797 39.748 0.165 | 0.611 37.241 0.097 | 0.363
## DEXA fat mass   | 0.010  0.481 0.000 | 0.175 10.663 0.030 | 0.696
## DEXA lean mass  | 0.531 26.469 0.281 | 0.310 18.925 0.096 | 0.107
## DEXA bone mass  | 0.420 20.928 0.170 | 0.290 17.652 0.081 | 0.179
##
## ctr   cos2
## Age effect      1.274 0.000 |
## General features 26.663 0.034 |
## DEXA fat mass   51.120 0.482 |
## DEXA lean mass   7.820 0.011 |
## DEXA bone mass  13.123 0.031 |
```

La ilustración 7A muestra como el avance del tiempo se correlaciona considerablemente con la variación de las mediciones DEXA tanto para la masa grasa como para la masa ósea. En menor medida, el avance del tiempo también se asocia con la variación del tipo de mediciones descrita para la masa magra. Por su parte, no se aprecia una correlación entre las variables que definen las características de los pacientes (IMC, lipodistrofia, *Tscore_3cat* y género) con el efecto tiempo.

La ilustración 7B describe los cambios fisiológicos que experimentan los pacientes VIH+ pertenecientes al estudio estadístico longitudinal. La tendencia general que se observa en estos a medida que avanza la enfermedad es una disminución de la masa ósea en todas las regiones del organismo analizadas (columna lumbar, cuello del fémur, triángulo de Ward y trocánter). También se aprecia un aumento de su masa grasa, siendo esta última además anormalmente distribuida en las extremidades y el tronco. El avance de la enfermedad se puede asociar con una disminución de la masa magra en las últimas regiones mencionadas.

La ilustración 7C expone los resultados numéricos obtenidos durante el estudio longitudinal para los diferentes conjuntos de variables. Las diferentes dimensiones indican la correlación que existe entre cada conjunto, plasmados de forma más visual en la ilustración 7A. Pues, aquellos conjuntos con coordenadas más similares al efecto tiempo (masa ósea y masa grasa, respectivamente) son los que mayor asociación presentan con el avance de la enfermedad. El conjunto de variables de masa magra presenta una menor coincidencia de coordenadas con el efecto tiempo, mostrando así una menor correlación en comparación a los dos conjuntos antes descritos. No se aprecia ninguna relación numérica entre las diferentes características especificadas y el paso del tiempo, dada las coordenadas distantes que presentan.

4. Discusión

Teniendo en cuenta los resultados comentados previamente, se propone la actividad física de intensidad moderada y/o prolongada como forma de reducir tanto el exceso de masa grasa como evitar, en la medida de lo posible, la progresión de la enfermedad.

Diferentes estudios han mostrado una correlación inversa entre la carga viral y la actividad física. Además, los mismos muestran una asociación entre el recuento de células inmunitarias CD4 y el metabolismo aeróbico asociado al ejercicio físico. También es importante recalcar que la propia actividad física se ha asociado a una disminución de los niveles séricos de adipocinas proinflamatorias (25,26).

Desde un punto de vista metabólico, los lípidos son el combustible principal que utiliza el organismo cuando se lleva a cabo actividad física de intensidad moderada y/o prolongada. Por una parte, esto es debido a su densidad energética, mayor en comparación a otros metabolitos como los hidratos de carbono. Por otra parte, los requerimientos de ATP durante este tipo de ejercicio no son inmediatos (al contrario de lo que sucede en actividades de alta o muy alta intensidad). Este hecho encaja con las características metabólicas de las vías lipídicas, las cuales proporcionan ATP al organismo de forma más lenta respecto a otras (27).

La práctica de este tipo de actividad física por parte de pacientes VIH⁺ a medio o largo plazo puede ayudarles a mitigar los efectos de la propia enfermedad, si bien ello no excluye el hecho que deban seguir sometiéndose al tratamiento antirretroviral.

Existen varios aspectos relevantes a la hora de llevar a cabo la planificación de la actividad física en estos pacientes. El género es uno de ellos, ya que los hombres y las mujeres presentan diferencias en cuanto a su distribución fisiológica (1,8,9). Igualmente, también cabe considerar la cantidad de masa magra y ósea del propio paciente, especialmente si éstas se encuentran reducidas. En este último caso, el ejercicio moderado y/o prolongado ha de llevarse a cabo con precaución, ya que existe un mayor riesgo de padecer lesiones. Esta situación resulta contraproducente, ya que el sistema inmunitario tiene un rol muy importante en la recuperación de las lesiones y la funcionalidad de éste es baja en pacientes infectados (27). Así pues, el 38.28% de hombres y el 32.49% de mujeres pertenecientes al estudio se encuentran inmersos en esta problemática descrita.

La fase de la enfermedad es otro aspecto clave a tener en cuenta durante la propia planificación. El estado físico no es el mismo en las etapas iniciales de la enfermedad que en las avanzadas. En este sentido, aquellos pacientes que se encuentran en las segundas tienen una capacidad física menor que aquellos que se encuentran en las primeras. Esto se debe a que el consumo máximo de oxígeno en capacidades de ejercicio submáximas ($VO_{2máx}$) se ve incrementado cuanto mayor ha sido la progresión de la infección del virus. No hay que olvidar el delicado estado inmunológico que poseen los pacientes en fase avanzada, hecho que dificulta que estos logren conseguir los objetivos planteados con anterioridad (25,26).

Partiendo de los resultados obtenidos en las ilustraciones 4 y 5, la edad de los pacientes del estudio se encuentra correlacionada tanto con la redistribución de la masa grasa en las extremidades (lipodistrofia) como con la densidad de masa ósea (puntuación Z).

Las observaciones descritas para la masa grasa coinciden con las tomadas en otros estudios llevados a cabo. Estos últimos consideran la edad como un factor relacionado con la redistribución fisiológica de la grasa. Además, determinan un aumento de la misma en el VAT de entre un 60% y un 85% desde los 25 hasta los 65 años de edad en condiciones normales. Estos datos se ven agravados considerablemente en pacientes VIH⁺ ya que, al efecto de la edad, se le suma tanto la propia acción del virus como los efectos de la exposición al ART (28). Este incremento también se ve reflejado en el estudio longitudinal llevado a cabo, donde se determina que los pacientes estudiados sufren tanto un aumento de la masa grasa como una redistribución fisiológica anormal de ésta a largo plazo. Así pues, se puede pronosticar que el envejecimiento en estos será notablemente acelerado, pues los efectos de la edad se ven potenciados a causa de los factores ya descritos.

En base a los resultados obtenidos y la bibliografía consultada, el género influye notablemente en la densidad de masa ósea en pacientes VIH⁺ (28). Este hecho se justifica por la correlación que existe entre el estado postmenopáusico en mujeres infectadas y la propia disminución. En consecuencia, las mujeres VIH⁺ son más propensas a padecer osteoporosis a medida que pasan los años (1).

No obstante, esto no exime a los hombres VIH⁺ de padecer osteoporosis a medida que avanza la enfermedad. Determinados tratamientos antirretrovirales como el *TDF* (*tenofovir disoproxil fumarato*) o los *inhibidores de proteasas* aceleran la reducción de la masa ósea, independientemente de cuál sea el género del paciente afectado (10).

Por tanto, se propone la suplementación oral de vitamina D como forma de dar solución a la problemática descrita. La ingesta de esta vitamina podría recuperar los niveles de densidad de masa ósea hasta los valores normales (10). Pues, se conseguiría reducir el riesgo de fractura, el cual es tres veces superior en pacientes afectados que en pacientes sanos (10).

Por sí sola, la ingesta de vitamina D no llegaría a ser suficiente en caso de que el paciente siga exponiéndose a *TDF* y a los inhibidores de proteasas. Por este motivo, se propone la sustitución de estos dos por tratamientos antirretrovirales alternativos como el *abacavir*, el *raltegravir* o el *TAF* (*tenofovir alafenamida*). Estudios estadísticos han mostrado el menor impacto que tienen estos últimos en la reducción de la masa ósea (10). La combinación de ambas puede ser una buena opción de cara a reducir la degradación descrita en estos pacientes.

La ilustración 6 muestra como el peso y la altura de los pacientes VIH⁺ se correlacionan tanto con la distribución anormal de masa magra como con la disminución de la calidad muscular. La misma no muestra una correlación de la edad y el género con las variables referentes a la masa magra. Sin embargo, estudios previos consideran la edad como un factor influyente en la reducción de la masa magra en edades avanzadas, tanto en condiciones normales como, especialmente, en pacientes VIH⁺ (28). Otros estudios longitudinales muestran como la variación de masa muscular es diferente dependiendo del género del paciente, siendo mayor en mujeres que en hombres (3).

Según el estudio longitudinal implementado, la progresión de la enfermedad influye en las características fisiológicas de los pacientes VIH⁺ a largo plazo (20 años). El avance del tiempo se asocia con la variación del conjunto de variables DEXA de la masa grasa y ósea. En menor medida, esta asociación también se da para el conjunto de variables DEXA de la masa magra. Estas correlaciones se traducen en una disminución de la masa ósea en la columna lumbar, en el cuello del fémur, en el triángulo de Ward y en el trocánter. También se traducen en un aumento de la masa grasa en las extremidades y el tronco, siendo ésta además anormalmente distribuida. A largo plazo, estos resultados explican la disminución de la masa magra en estas últimas regiones mencionadas.

Las observaciones coinciden con la bibliografía consultada, cuyos estudios estadísticos longitudinales muestran un aumento de la masa grasa y una disminución de la masa ósea a largo plazo en pacientes VIH⁺ (29). En cuanto a la masa magra, también se observan coincidencias con otros estudios estadísticos, aunque existen varios aspectos que es importante recalcar (1).

Las fases avanzadas de la enfermedad se correlacionan con porcentajes de masa muscular por debajo de los valores normales. No obstante, los cambios que experimentan los pacientes VIH⁺ a corto y medio plazo se traducen en un aumento notable de masa magra. En el momento que los pacientes progresan hacia las etapas avanzadas, se aprecia como experimentan una disminución progresiva de ésta (1).

Dada la propia planificación del análisis longitudinal, no se han podido apreciar los cambios descritos a corto-medio plazo para la masa magra. El motivo se debe a que el intervalo de tiempo establecido entre las primeras mediciones DEXA y las últimas ha sido de 20 años. La decisión de establecer este intervalo se ha tomado en base a los objetivos principales de este proyecto. Uno de ellos busca observar si el efecto tiempo influye en la distribución anormal de masas en pacientes VIH⁺. Otro de los objetivos busca observar aquellos cambios específicos que acontecen en estos a largo plazo.

Se ha considerado importante destacar este hecho para la masa magra, pues el comportamiento descrito no se aprecia en el resto de masas analizadas, siendo un aumento progresivo en el caso de la masa grasa y una disminución continua en el caso de la masa ósea.

5. Conclusiones

5.1 Conclusión

Los efectos causados por el virus, además de los derivados por la exposición a determinados ART (*TDF* e *inhibidores de proteasas*) provocan toda una serie de cambios fisiológicos a lo largo del tiempo en pacientes VIH⁺. A medida que avanza la enfermedad, los pacientes experimentan un aumento progresivo de la masa grasa. También experimentan una distribución anormal de grasa en las extremidades y en el tronco. El progreso de la patología también se relaciona con una disminución progresiva de la masa ósea en el organismo. En cuanto a la masa magra, estos experimentan un aumento a corto-medio plazo y una disminución significativa a largo plazo.

Como forma de mejorar la calidad de vida de estos pacientes, se propone la planificación de una rutina de actividad física de carácter moderado y/o prolongado. Este tipo de ejercicio no ha de suponer un desgaste considerable en la masa ósea y ha de adaptarse tanto a la edad como a la fase de la enfermedad del mismo. También se propone una suplementación de vitamina D en la dieta, además del uso de tratamientos antirretrovirales alternativos como el *abacavir*, el *raltegravir* o el *TAF*. Esto permitiría reducir el impacto de estos tratamientos en la masa ósea del paciente.

En conjunto, se busca ralentizar los efectos de la propia infección y de las patologías de carácter cardiovascular asociadas al VIH.

5.2 Futuras actualizaciones

Existen una serie de aportaciones que se pueden llevar a cabo en caso de actualizar este proyecto.

- *Incorporación de variables relacionadas con el tratamiento antirretroviral.* Por ejemplo, el recuento de linfocitos T CD4, la carga viral del propio virus o el tipo de ART al que se expone el paciente, entre otras. Esto permitiría determinar los cambios en la distribución fisiológica a largo plazo en base al tratamiento utilizado. Además, estas variables podrían ser de ayuda para comprender la disminución de la masa ósea en esta misma situación. Diversos estudios muestran como el estado inflamatorio crónico, sumado a los factores de riesgo tradicionales, influye en la aceleración de la reducción mencionada (10).
- *Inclusión de parámetros séricos y ampliación de variables relacionadas con características generales.* Por ejemplo, si los pacientes fuman, si llevan a cabo actividad física, si son bebedores habituales, si la ingesta de calcio en la dieta es normal o reducida, si los niveles de vitamina D séricos se encuentran entre los valores normales, entre otros. Su adhesión permitiría comprobar si alguna de éstas se correlaciona con la distribución anormal de masas a largo plazo que padecen los pacientes VIH⁺. Igualmente, éstas podrían complementar y reforzar los resultados estadísticos que se obtengan a lo largo del estudio.

- *Incorporación de más intervalos de tiempo en el análisis estadístico longitudinal.* Este estudio únicamente ha abarcado los cambios fisiológicos longitudinales a largo plazo. No obstante, sería realmente interesante poder estudiar este tipo de cambios a corto y medio plazo (intervalos de 5, 10 y 15 años). Los futuros resultados complementarían a las observaciones llevadas a cabo en este estudio. Pese a que los cambios que se esperan observar a corto plazo serían de menor grado, las etapas intermedias de la enfermedad permitirían estudiar el caso de la masa magra en profundidad, el cual se ha tratado previamente en el apartado *Discusión*.

Por tanto, una futura actualización del proyecto propone implementar el mismo protocolo experimental descrito en el apartado 2.8.1 de *Materiales y métodos* para los intervalos de 5, 10, 15 y 20 años. Esto generaría nuevos conjuntos de datos a contrastar numéricamente y gráficamente. Esto se traduce en nuevas variables de efecto tiempo, cada una de ellas junto a sus diferentes conjuntos de variables DEXA.

- *Aplicación de más métodos estadísticos multivariantes que complementen a los ya utilizados en este proyecto.* Esto permitiría reforzar las conclusiones que se generen tras la obtención de resultados. Se incluye el uso de los métodos descritos inicialmente en el plan de trabajo, siempre que se disponga del tiempo suficiente para su implementación. La condición se debe a que el tiempo ha sido un factor que ha limitado su uso en este proyecto.

Independientemente de las diferentes enumeraciones descritas, se han logrado todos y cada uno de los objetivos propuestos con anterioridad en esta memoria.

6. Glosario

- *DEXA*: Correspondiente a las siglas “*Dual-energy X-ray absorptiometry*”, es un método clínico sencillo, rápido y no invasivo que permite la medición de la densidad de la masa ósea, además de la masa grasa y la masa magra. Es de gran utilidad para llevar a cabo la evaluación y el seguimiento de pacientes VIH⁺ (30,31).
- *Medición T*: Puntuación obtenida tras la ejecución del método DEXA, el cual consiste en la desviación estándar de la densidad de la masa ósea del paciente respecto al valor medio de referencia (tomado en pacientes sanos, no necesariamente de la misma edad y género del paciente evaluado) (32).
- *Medición Z*: Puntuación obtenida tras la ejecución del método DEXA, el cual consiste en la desviación estándar de la densidad de la masa ósea del paciente respecto al valor medio de referencia (tomado en pacientes sanos de la misma edad y género del paciente evaluado) (32).
- *minTscore*: Variable perteneciente a la base de datos DEXA, la cual indica el valor mínimo de la medición T para cada uno de los pacientes VIH⁺ del estudio estadístico.
- *Tscore_3cat*: Variable perteneciente a la base de datos DEXA, la cual clasifica a los pacientes VIH⁺ según su densidad de masa ósea en “0: *normal*”, “1: *osteopenia*” y “2: *osteoporosis*”.
- *Lipodistrophy*: Variable perteneciente a la base de datos DEXA, la cual clasifica a los pacientes VIH⁺ en lipodistróficos (0) o no lipodistróficos (1).

7. Bibliografía

1. Gomes DC, Valadares ALR, De Moraes MJ, Lagrutta BB, Pinto-Neto AM, Costa-Paiva L. Low bone mass in human immunodeficiency virus-infected climacteric women receiving antiretroviral therapy: Prevalence and associated factors. *Menopause*. 2015;22(2):224-30.
2. Lake JE. The Fat of the Matter: Obesity and Visceral Adiposity in Treated HIV Infection. *Curr HIV/AIDS Rep*. 18 de diciembre de 2017;14(6):211-9.
3. Grant PM, Kitch D, McComsey GA, Collier AC, Bartali B, Koletar SL, et al. Long-term body composition changes in antiretroviral-treated HIV-infected individuals. *Aids*. 2016;30(18):2805-13.
4. Erlandson KM, Lake JE. *Fat Matters : Understanding the Role of Adipose Tissue in Health in HIV Infection*. 2016;
5. Tejido adiposo visceral | Definición | infoSIDA [Internet]. [citado 24 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://infosida.nih.gov/understanding-hiv-aids/glossary/1501/tejido-adiposo-visceral>
6. Coleman WB, Tsongalis GJ. *Molecular pathology: the molecular basis of human disease*. Academic Press; 2009. 636 p.
7. Fourman LT, Lu MT, Lee H, Fitch K V., Hallett TR, Park J, et al. Differential relationships of hepatic and epicardial fat to body composition in HIV. *Physiol Rep*. 2017;5(19):1-11.
8. Blaak E. Gender differences in fat metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. noviembre de 2001;4(6):499-502.
9. Miller AEJ, MacDougall JD, Tarnopolsky MA, Sale DG. Gender differences in strength and muscle fiber characteristics. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. marzo de 1993;66(3):254-62.
10. Negredo E, Bonjoch A, Clotet B. Management of bone mineral density in HIV-infected patients. *Expert Opin Pharmacother*. 2016;17(6):845-52.
11. Lima LRA De, Rosane CR, Giuliano IDC, Sakuno T. Bone mass in children and adolescents infected with human immunodeficiency virus ☆. 2013;89(1):91-9.
12. Chapter 2 Basics | R Markdown: The Definitive Guide [Internet]. [citado 7 de junio de 2019]. Disponible en: <https://bookdown.org/yihui/rmarkdown/basics.html>
13. Castillo J, Cortez K, Wong A, Villalpando P. Analisis de correlacion canonica (ACC) e investigacion cientifica. *Innovaciones de Negocios*. 2007;4(2):405-22.
14. R: The R Project for Statistical Computing [Internet]. [citado 7 de junio de 2019]. Disponible en: <https://www.r-project.org/>
15. Open source and enterprise-ready professional software for data science - RStudio [Internet]. [citado 7 de junio de 2019]. Disponible en: <https://www.rstudio.com/>
16. Málaga U de. *Bioestadística: Métodos y Aplicaciones*. 2000;321.
17. assoc function | R Documentation [Internet]. [citado 7 de junio de 2019]. Disponible en: <https://www.rdocumentation.org/packages/vcd/versions/1.4-4/topics/assoc>
18. Lund UJ. An R and S-Plus ® Companion to Multivariate Analysis . Vol. 101, *Journal of the American Statistical Association*. 2009. 857-858 p.
19. R: Principal Components Analysis [Internet]. [citado 7 de junio de 2019]. Disponible en: <https://stat.ethz.ch/R-manual/R-devel/library/stats/html/prcomp.html>
20. PCA function | R Documentation [Internet]. [citado 7 de junio de 2019]. Disponible en: <https://www.rdocumentation.org/packages/FactoMineR/versions/1.41/topics/PCA>

21. select function | R Documentation [Internet]. [citado 7 de junio de 2019]. Disponible en: <https://www.rdocumentation.org/packages/jmvcore/versions/0.9.6.4/topics/select>
22. Análisis de Correspondencia Canónica en R | R blogs / lang [Internet]. [citado 7 de junio de 2019]. Disponible en: <https://www.r-bloggers.com/lang/spanish/431>
23. FactoMineR: MFA [Internet]. [citado 2 de junio de 2019]. Disponible en: <http://factominer.free.fr/factomethods/multiple-factor-analysis.html>
24. (20) Multiple Factor Analysis (MFA) using FactoMineR - YouTube [Internet]. [citado 7 de junio de 2019]. Disponible en: https://www.youtube.com/watch?v=7HHuKsl2_fk
25. Bopp CM, Phillips KD, Fulk LJ, Hand GA. Clinical Implications of Therapeutic Exercise in HIV/AIDS. *J Assoc Nurses AIDS care*. 2003;14(1):73-8.
26. Dirajjal-Fargo S, Webel AR, Kinley B, Labbato D, Jiang Y, Debanne SM, et al. The Effect of Physical Activity on Cardiometabolic Health and Inflammation in HIV. Abstract #745. CROI 2015 Conf Retroviruses Opportunistic Infect Febr 23-26, 2015 Seattle. 2015;21(3):237-45.
27. Maughan RJ, Gleeson M. The biochemical basis of sports performance. Oxford University Press; 2010. 316 p.
28. Guaraldi G, Stentarelli C, Zona S, Santoro A, Beghetto B, Carli F, et al. The natural history of HIV-associated lipodystrophy in the changing scenario of HIV infection. *HIV Med*. 1 de mayo de 2014;15(10):n/a-n/a.
29. Degris E, Delpierre C, Sommet A, Sire S, Lassoued S, Aquilina C, et al. Longitudinal Study of Body Composition of 101 HIV Men With Lipodystrophy: Dual-Energy X-Ray Criteria for Lipodystrophy Evolution. *J Clin Densitom*. abril de 2010;13(2):237-44.
30. Dual energy X-ray absorptiometry - Bone mineral densitometry | IAEA [Internet]. [citado 2 de junio de 2019]. Disponible en: <https://www.iaea.org/resources/rpop/health-professionals/other-specialities-and-imaging-modalities/dxa-bone-mineral-densitometry>
31. Densitometría ósea (DEXA, DXA) [Internet]. [citado 2 de junio de 2019]. Disponible en: <https://www.radiologyinfo.org/sp/info.cfm?pg=dexa>
32. Bone densitometry [Internet]. [citado 2 de junio de 2019]. Disponible en: <https://courses.washington.edu/bonephys/opbmdtz.html#zcalc>

8. Anexos

A continuación, se incluye un enlace donde se puede proceder a la descarga del código desarrollado y utilizado para llevar a cabo el análisis estadístico multivariante, además del informe *Rmarkdown* resultante y los diagramas de flujo relacionados con la búsqueda bibliográfica.

<https://drive.google.com/open?id=1Hj2AXuRuIXNiJrxQaU9pbzWwaWHh1pa3>