



**Universidad del País Vasco.
Euskal Herriko Unibertsitatea.
Facultad de Medicina y Odontología.**

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública.

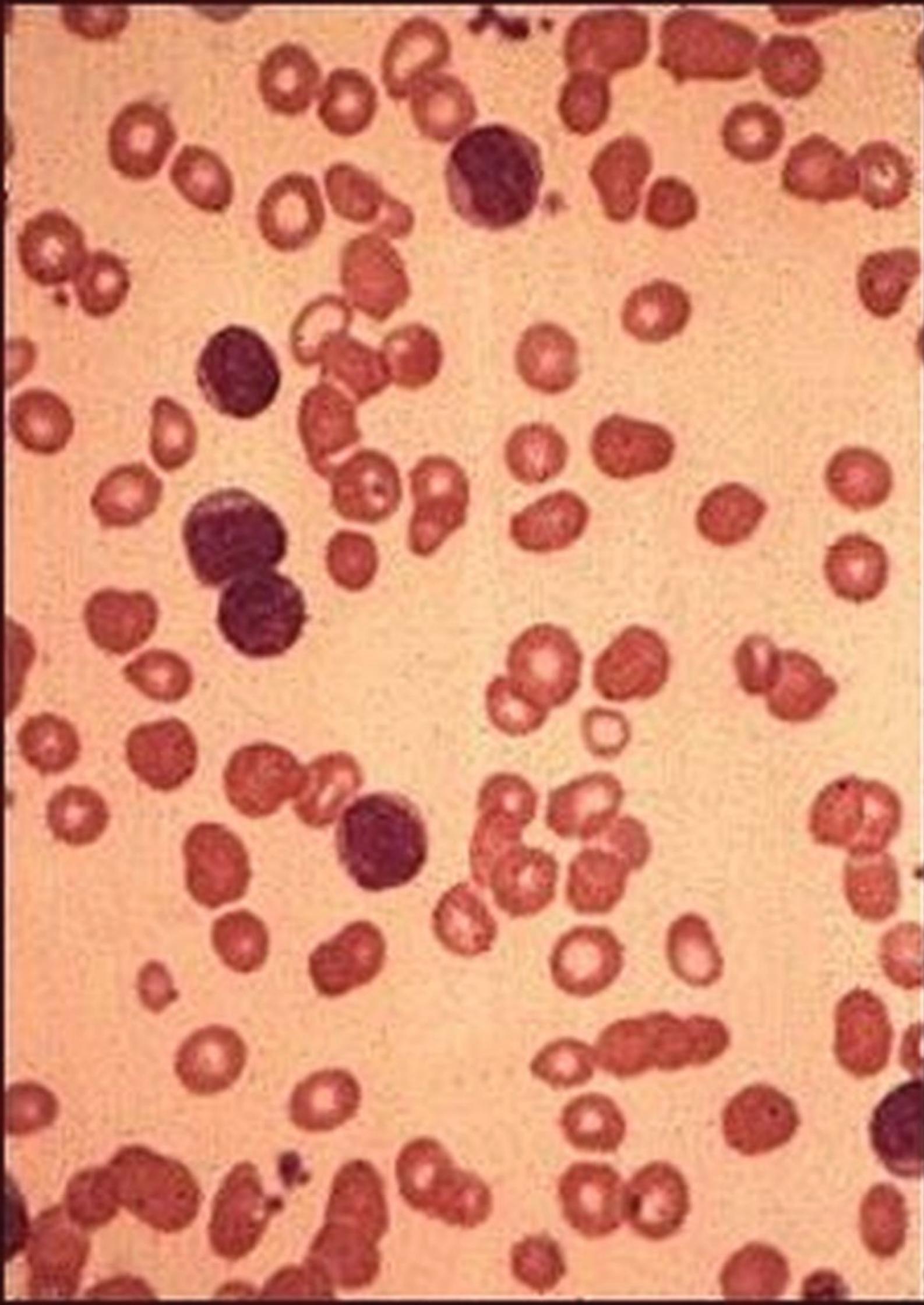


Tesis Doctoral.

**EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES DE
LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA: ESTUDIO
DE LA CONCENTRACIÓN DE HEMOGLOBINA,
EL RECUENTO DE PLAQUETAS Y EL NÚMERO
DE LINFOCITOS.**

Autor: Carlos Rodríguez Andrés.

Leioa 1997

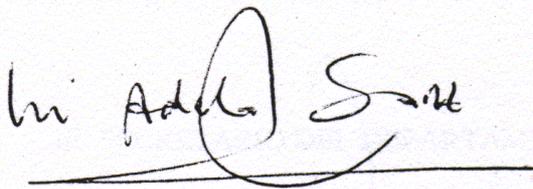


**María Adela Sanz Aguado, Doctora en Ciencias (Sección Matemáticas) y
Catedrática de Medicina Preventiva y Salud Pública,**

CERTIFICA:

Que **D. Carlos Rodríguez Andrés** ha realizado el trabajo titulado “**Evolución de los pacientes de leucemia linfocítica crónica: estudio de la concentración de hemoglobina, el recuento de plaquetas y el número de linfocitos**” bajo su dirección, y que considera el trabajo apto para ser presentado como Tesis Doctoral y proceder a su defensa.

En Leioa a 29 de abril de 1996



Handwritten signature of María Adela Sanz Aguado, written in black ink on a light-colored background. The signature is written in a cursive style and is underlined with a horizontal line.

Dedicado a Carmen

Adrián

y

Fabio

por todo...

**EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES DE
LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA: ESTUDIO
DE LA CONCENTRACIÓN DE HEMOGLOBINA,
EL RECUENTO DE PLAQUETAS Y EL NÚMERO
DE LINFOCITOS.**



**Universidad del País Vasco.
Euskal Herriko Unibertsitatea.
Facultad de Medicina y Odontología.**

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública.



Tesis Doctoral.

**EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES DE
LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA: ESTUDIO
DE LA CONCENTRACIÓN DE HEMOGLOBINA,
EL RECUENTO DE PLAQUETAS Y EL NÚMERO
DE LINFOCITOS.**

Autor: Carlos Rodríguez Andrés.

Leioa 1997

Agradecimientos:

A la profesora **María Adela Sanz Aguado** por su firme dirección y apoyo. Verdadera maestra y guía de este doctorando.

A todo el **grupo cooperativo francés para el estudio de la Leucemia Linfocítica Crónica**, y en especial a su director estadístico profesor **Claude Chastang**, por los datos recogidos en el ensayo LLC-80.

A la **Universidad del País Vasco** por la concesión de ayuda a la realización de esta tesis doctoral durante los años 1990 a 1993.

A **Santiago de la Hoz** por su asesoramiento y buenos consejos en el mecanografiado de parte de este trabajo.

Índice de Materias.

Capítulo 1.

Introducción. Objetivos Generales e Hipótesis de Trabajo.

I. INTRODUCCIÓN.	3
II. OBJETIVOS GENERALES E HIPÓTESIS DE TRABAJO.	9
III. ORGANIZACIÓN DEL TRABAJO.	11

Capítulo 2.

Clínica, Diagnóstico, Pronóstico y Tratamiento de la Leucemia Linfocítica Crónica (LLC).

I. CLÍNICA DE LA LLC.	17
A. Edad y Sexo.	17
B. Síntomas de Comienzo.	18
C. Exploración Física.	18
D. Recuento de Células Sanguíneas.	19
E. Otras Substancias en el Suero.	19
F. Inmunología y Sistema Complemento en la LLC.	20
G. Complicaciones de la LLC.	22
II. ANATOMÍA PATOLÓGICA DE LA LLC.	23
A. Las Células Sanguíneas.	23
B. La Médula ósea en la LLC.	24
C. Las Adenopatías en la LLC.	26
III. CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO E INCLUSIÓN EN ENSAYOS CLINICOS. ...	27
A. Criterios de Diagnóstico.	27
1. La Población Linfocítica en Sangre Periférica.	29
2. Estudio de la Médula Ósea.	29
B. Criterios de Exclusión y Diagnóstico Diferencial.	30
C. Criterios para el Diagnóstico de Enfermedad Activa.	32
IV. PRONÓSTICO DE LOS PACIENTES CON LLC.	33
A. Factores Pronóstico ampliamente reconocidos.	33
B. Clasificación de Rai et al. (1975).	34
C. Clasificación de Binet et al. (1981).	36
D. Clasificación del "International Workshop on CLL".	39
E. Valor pronóstico de las variables Edad y Sexo.	40
F. La Biopsia Medular en el Pronóstico de la LLC.	40
G. Los estudios Citogenéticos y su valor pronóstico.	42

H. El Tiempo Hasta que se Dobra el Número de Linfocitos.	43
I. Otros posibles factores pronóstico.	44
J. Factores Pronóstico Tiempo Dependientes.	44
V. TRATAMIENTO DE LA LLC.	47
A. Ensayos Clínicos: Criterios de Valoración de Tratamientos.	47
B. Valoración de Ensayos Clínicos sobre LLC.	49
C. Cuándo tratar la LLC.	50
D. Cómo tratar la LLC.	51
E. Otros Tratamientos en Fase Experimental.	54
F. Posibilidad de Curar la LLC.	55

Capítulo 3.

Descripción del Protocolo LLC-80. Material de Trabajo.

I. DESCRIPCIÓN DEL PROTOCOLO DEL ENSAYO LLC-80.	59
A. Los Tratamientos Ensayados y el Diseño de Comparación.	59
B. Criterios de Inclusión y No inclusión.	61
C. Aleatorización.	63
D. Recogida de Datos: Balance Inicial y de Evolución.	63
E. La Escala Temporal y los Balances de Seguimiento.	65
II. MATERIAL UTILIZADO EN ESTE TRABAJO.	69
A. Pacientes y Balances.	69
B. Variables del Balance Inicial.	70
C. Variables de los Balances de Seguimiento.	71

Capítulo 4.

Métodos de Análisis.

I. DISEÑOS PARA EL ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN.	77
A. Tipos de Diseños Longitudinales.	78
B. Características de los Datos: Importancia del Análisis Preliminar.	80
II. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE ESTUDIOS LONGITUDINALES.	85
A. Métodos para Datos Balanceados y Completos.	87
1. El Análisis de Varianza.	88
2. Análisis de Curvas de Crecimiento.	92
B. Método para Datos No-balanceados: El Modelo Jerárquico.	95
1. Descripción del Modelo.	95
2. Estimación de los Parámetros.	97
3. Implementaciones del Modelo Jerárquico.	99

III. PLANTEAMIENTO DE NUESTRO ANÁLISIS DE EVOLUCIÓN.	101
A. Modelización de la Media de la Variable Respuesta.	101
B. Modelización de la Varianza de la Variable Respuesta.	103
C. El Contraste de Hipótesis.	104
1. Contraste de Hipótesis sobre la Covarianza.	105
2. Contraste de los Efectos del Modelo para la Media.	105
IV. ESTRATEGIA DEL ANÁLISIS.	109
A. Análisis de la Muestra de Exploración: Construcción de Hipótesis.	111
1. Análisis del Balance Inicial.	111
2. Análisis de la Evolución en la Muestra de Exploración.	113
B. Análisis de la Muestra de Contraste: Contraste de Hipótesis.	114

Capítulo 5.

Descripción del Seguimiento de los Pacientes en Estudio.

I. FECHA EN QUE SE HA REALIZADO EL BALANCE INICIAL.	115
II. EL TIEMPO DE SEGUIMIENTO Y EL NÚMERO DE BALANCES.	119
A. Localización Temporal de los Balances de Seguimiento.	120
B. Intervalos de tiempo entre balances de seguimiento consecutivos.	124
C. Balances de Seguimiento Excluidos del Análisis.	125

Capítulo 6.

Análisis del Balance Inicial en la Muestra de Exploración.

I. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES Y ASOCIACIONES DE INTERÉS.	127
A. El Sexo y la Edad.	129
B. La Afectación Ganglionar, Hepática y Esplénica.	130
C. Estadio Pronóstico (STADEN) y Tratamiento Asignado (RAND).	134
D. Número de Linfocitos en Sangre Periférica (NLYMP).	135
1. Efecto del Sexo.	140
2. Efecto de la Edad.	141
3. Efecto del Estadio Pronóstico.	143
4. Efecto del Número de Áreas Afectadas.	144
E. Concentración de Hemoglobina en Sangre Periférica (HB).	146
1. Efecto del Sexo.	150
2. Efecto de la Edad.	152
3. Efecto del Estadio Pronóstico.	154
4. Efecto del Número de Áreas Afectadas.	156
F. Descripción del Número de Plaquetas en Sangre (PLAQ).	158
1. Efecto del Sexo.	162

2. Efecto de la Edad.	162
3. Efecto del Estadio Pronóstico.	164
4. Efecto del Número de Áreas Afectadas.	166
II. ESTUDIO MULTIVARIANTE DE LA ASOCIACIÓN.	169
A. Diagramas de Dispersión de LOGNLYMP, HB y PLAQ.	170
B. Análisis de Todos los pacientes (Estadios A, B y C).	173
1. MANOVA1: LOGNLYMP, HB y PLAQ en función de Sexo, Edad y NROAREAS.	173
2. MANOVA2. Consideración de los Valores Altos de NLYMP.	183
3. Estudio de la Correlación parcial entre Variables Respuesta	187
4. Definición del factor ZONA y Modelo MANOVA3.	191
C. Estudio limitado a los pacientes clasificados en estadios A y B.	198
1. NROAREAS en la explicación de las Variables Respuesta.	200
2. I_NLYMP en la explicación de las Variables Respuesta.	201
3. I_HB en la explicación de las Variables Respuesta.	203
4. I_PLAQ en la explicación de las Variables Respuesta.	204
5. Asociación entre los factores: NROAREAS, I_NLYMP, I_HB e I_PLAQ.	204
6. Los niveles iniciales I_HB e I_PLAQ en relación con ZONA.	206

Capítulo 7.

Análisis de Evolución en la Muestra de Exploración. .	209
I. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN EN EL ESTADIO PRONÓSTICO A.	213
A. Evolución del Logaritmo del Número de Linfocitos (LOGNLYMP).	214
B. Evolución de la Concentración de Hemoglobina (HB).	223
C. Evolución del Número de Plaquetas (PLAQ)	230
II. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN EN EL ESTADIO PRONÓSTICO B.	237
A. Evolución del Logaritmo del Número de Linfocitos (LOGNLYMP).	238
B. Evolución de la Concentración de Hemoglobina (HB).	242
C. Evolución del número de Plaquetas (PLAQ).	247

Capítulo 8.

Análisis de la Muestra de Contraste.	255
I. ANALISIS DEL BALANCE INICIAL.	257
A. Las Hipótesis.	257
B. Estudio Univariante.	260
1. El Efecto del Sexo.	260
2. El Efecto del Número de áreas afectadas (NROAREAS).	261

3. El Efecto del estadio pronóstico (STADEN).	262
C. Análisis Multivariante del Balance Inicial.	263
1. Modelo MANOVA1: Categorización de Significado Global.	263
2. MANOVA2. Relación HB-PLAQ independiente de I_NLYMP.	264
3. MANOVA3. El factor ZONA en la explicación de las Respuestas.	264
4. Estudio de la Asociación limitado a los Estadios A y B.	265
II. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN EN EL ESTADIO A.	267
A. Análisis de la Evolución de LOGNLYMP.	268
1. Las Hipótesis.	268
2. Ajuste del Modelo Jerárquico Seleccionado (MJ_L1.9).	268
3. Modelo resumen de la evolución de LOGNLYMP.	273
B. Análisis de la Evolución de HB.	275
1. Las Hipótesis.	275
2. Ajuste del Modelo Jerárquico Seleccionado (MJ_H1.10).	275
3. Modelo resumen de la evolución de HB.	280
C. Análisis de la Evolución de PLAQ.	282
1. Las Hipótesis.	282
2. Ajuste del modelo seleccionado (MJ_P1.12).	282
3. Modelo resumen de la evolución de PLAQ.	287
III. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN EN EL ESTADIO PRONÓSTICO B.	289
A. Análisis de la evolución de LOGNLYMP.	290
B. Análisis de la evolución de HB.	293
C. Análisis de la evolución de PLAQ.	296
1. Las Hipótesis.	296
2. Ajuste del modelo seleccionado (MJ_P2.9).	296
3. Modelo resumen de la evolución de PLAQ.	300

Capítulo 9.

Discusión y Conclusiones.

I. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES EN EL BALANCE INICIAL.	305
A. Distribución de NLYMP y Tipos de Médula Ósea.	306
B. La Relación entre LOGNLYMP, HB y PLAQ.	308
C. El papel del Número de Áreas Afectadas (NROAREAS).	310
E. La definición del factor ZONA.	312
II. PATRONES DE EVOLUCIÓN DE LOGNLYMP, HB Y PLAQ.	315
A. Evolución en el estadio pronóstico A.	316
1. Evolución del logaritmo del número de linfocitos.	316
2. Evolución de la Concentración de Hemoglobina.	317

3. Evolución del número de plaquetas.	318
B. Evolución en el estadio B.	319
1. Evolución del logaritmo del número de linfocitos.	319
2. Evolución de la Concentración de Hemoglobina.	319
3. Evolución del recuento de plaquetas.	320
C. Patrones de evolución y tratamiento.	321
III. CONCLUSIONES.	323
A. Conclusiones del estudio del Balance Inicial.	323
B. Conclusiones del estudio de la evolución en el estadio A.	324
C. Conclusiones del estudio de la evolución en el estadio B.	326
D. Cuestiones abiertas.	327

Resumen y Palabras Clave.	329
---------------------------------------	------------

Índice de Tablas.	331
-------------------------------	------------

Índice de Figuras.	335
--------------------------------	------------

Índice de Siglas.	339
-------------------------------	------------

Bibliografía	341
--------------------------	------------

Capítulo 1.

Introducción. Objetivos Generales e Hipótesis de
Trabajo.

I. INTRODUCCIÓN.

La Leucemia Linfocítica Crónica (LLC) es un proceso patológico, definido por la **formación de células leucémicas** (CL) que se acumulan en el organismo debido a su larga vida media y a alteraciones de los mecanismos normales de intercambio celular entre los órganos linfoides y la circulación sanguínea (Dörmer et al. 1983; Gale y Foon 1985, 1987). El proceso, una vez iniciado, se desarrolla de forma **crónica** (Hougie et al. 1956). La morfología de las células leucémicas es muy similar a la de los linfocitos B maduros y **permanece constante durante meses o años, pero puede transformarse** en células de la leucemia prolinfocítica, células plasmáticas de apariencia madura o células peludas de la Tricoleucemia, al ser estimuladas con mitógenos o quimioterapia (Gordon et al. 1984; Caligaris-Capio et al. 1985; Roberts et al. 1989).

En general, hablamos de **proceso** para hacer referencia al **desarrollo temporal de los sucesivos estados de algún fenómeno**. Desde el punto de vista estadístico, un **proceso estocástico es una familia de variables aleatorias $Y(t)$, $t \in T$** , donde T es un conjunto de índices que representa el tiempo. En realidad, el proceso es una función de dos argumentos $Y(w,t)$ definida en el espacio $\Omega \times T$ (Ω es el espacio muestral). La **observación de la misma característica en un determinado paciente a lo largo del tiempo** puede ser considerada como una función $Y(w^*,t)$ con w^* fijo; dicha función $Y(w^*,t)$ es denominada función muestral, realización o **trayectoria del proceso** (Doob 1990).

A pesar de haberse desarrollado diferentes sistemas de clasificación pronóstica (Rai et al. 1975; Binet et al. 1981), y descrito múltiples complicaciones o estados de los pacientes a lo largo de la duración del proceso, son muy escasos **los estudios basados sobre trayectorias** que pretendan conocer si éstas siguen, o no, algún tipo de **patrón de evolución** que pudiera estar relacionado con las características de los pacientes. Galton et al. (1966) estudian la **evolución del logaritmo del número de linfocitos** en 39 pacientes de LLC, cuyos tiempos de seguimiento varían entre uno y diez años: describen tres **patrones diferentes de evolución** que podrían corresponder a un patrón único, encontrándose los pacientes en distintas fases según el tiempo de seguimiento. Bernardou et al. (1973) estudian la evolución del logaritmo del número de linfocitos en la sangre periférica de 20 pacientes de LLC y distinguen tres patrones de evolución, señalando el interés que para el médico clínico tiene este tipo de estudios y la necesidad de incluir un mayor número de pacientes. Montserrat et al. (1986) estiman el Tiempo hasta que se Duplica el número de Linfocitos (LDT) en sangre periférica, utilizando un patrón lineal de evolución de la linfocitosis obtenido a partir de las observaciones realizadas durante períodos de tiempo variables antes de comenzar el tratamiento de cada paciente. En otro orden de cosas, Viñolas (1988) estima la probabilidad de que se produzcan determinados sucesos, condicionada al tiempo de seguimiento de los pacientes antes de que precisaran tratamiento para su LLC. Chevret (1989) estudia el tiempo transcurrido hasta que se produce el primer cambio de estadio pronóstico en los pacientes inicialmente clasificados en el estadio A de Binet et al. (1981).

En los últimos años, el interés por el estudio de la evolución de los pacientes de LLC se ha reavivado, debido a que el tratamiento tradicional con clorambucil, en los enfermos en estadio A de Binet, parece tener tendencia a acortar la supervivencia de los pacientes tratados frente a los no tratados (FCGCLL 1988a). De hecho, Rozman et al. (1989b) recomiendan **esperar y ver la evolución**, comenzando el tratamiento sólo si **aparecen signos de mal pronóstico**, relacionados generalmente con el aumento del número de linfocitos, la disminución de la concentración de hemoglobina y/o reducción del número de plaquetas en sangre periférica. El estudio de los patrones de evolución de estas características es de particular interés, ya que su valor en el momento del diagnóstico ha sido relacionado con el tiempo de supervivencia de los pacientes y es utilizado en diferentes sistemas de clasificación pronóstica (Rai et al. 1975; Binet et al. 1981); además se utilizan como criterios de evolución y de respuesta al tratamiento (Chesson et al. 1988; Chesson 1988; IWCLL 1989), ya que son relativamente fáciles de medir mediante métodos poco agresivos que no entrañan riesgos excesivos para los pacientes. **Conocer estos patrones facilitaría la formulación de criterios de evolución más uniformes**, y permitiría el desarrollo de **estrategias de prevención de complicaciones o cambios de estadio pronóstico**, mediante la adaptación del tratamiento a la evolución (Bernardou et al. 1973).

El patrón de evolución de características diferentes al número de linfocitos, en los pacientes de LLC, no ha sido estudiado hasta ahora;

tampoco se ha estudiado la posible relación de dicho patrón con la edad, el sexo, el estadio pronóstico, el tratamiento seguido u otras circunstancias.

Cuestiones que consideramos de interés a priori son:

1. ¿Afectan los distintos tratamientos a la evolución del número de linfocitos, la del número de plaquetas o la concentración de hemoglobina?
2. ¿Es diferente la evolución de dichas variables en cada estadio pronóstico (Binet et al. 1981)?
3. ¿Tiene relación la evolución de estas variables con el sexo y/o la edad de los pacientes en el momento del diagnóstico?

Dar respuesta a estas cuestiones exige la identificación de patrones de evolución para la concentración de hemoglobina, el número de linfocitos y el número de plaquetas, variables que han sido relacionadas con la supervivencia de los individuos diagnosticados de LLC.

Desde hace más de quince años existe en Francia un grupo cooperativo para el estudio de la LLC (FCGCLL), con varios **ensayos clínicos** en desarrollo; en particular, el correspondiente al **protocolo LLC-80** (FCGCLL 1983) tiene como objetivo principal la evaluación de dos tratamientos en cada uno de los tres estadios pronóstico (A,B,C) de la clasificación de Binet et al.

(1981), mediante el criterio de supervivencia. Los ensayos clínicos del tipo del LLC-80 registran la **situación de los pacientes al inicio** del estudio y los **siguen durante varios años**, realizando exámenes clínicos periódicos que generan una importante cantidad de **información sobre la evolución de la enfermedad**. Esta información es además de gran calidad al estar recogida según el protocolo; en consecuencia, resulta de interés su aprovechamiento en relación con otros objetivos secundarios, **en particular el estudio de la evolución de la enfermedad**. Para la realización de este trabajo hemos contado con los datos del protocolo LLC-80 recogidos desde mayo de 1980 hasta junio de 1987. **Agradecemos al grupo cooperativo el acceso a la información y las facilidades prestadas.**

II. OBJETIVOS GENERALES E HIPÓTESIS DE TRABAJO.

El **objetivo principal** de este trabajo es el **estudio de la evolución** de tres variables respuesta:

1. **El Número de linfocitos,**
2. **La Concentración de hemoglobina y**
3. **El Número de plaquetas,**

medidas en la sangre periférica de los pacientes de LLC clasificados en estadios pronóstico precoces (A o B de la clasificación de Binet et al. 1981). La limitación a dichos estadios obedece a que son los que incluyen un mayor número de pacientes y supervivencias más largas, habiéndose descrito además cambios hacia el estadio C, de peor pronóstico (Chevret 1989).

Nuestra hipótesis fundamental es la **existencia de diferentes patrones de evolución de las variables respuesta**, que pueden **identificarse a partir de las características de los pacientes observadas en el momento del diagnóstico**, al comienzo del seguimiento. En concreto, estudiaremos las siguientes **variables explicativas**: el sexo, la edad, el estadio pronóstico (Binet et al. 1981) y el tratamiento asignado.

1. Se estudiará en primer lugar la relación de las variables respuesta entre sí, y con las variables explicativas, medidas al **comienzo del seguimiento de los pacientes y antes de comenzar ningún tratamiento.**

2. En segundo lugar se estudiará la **relación de cada variable respuesta con el tiempo de seguimiento**, y con la **edad, sexo, estadio pronóstico y tratamiento**, para **identificar diferentes patrones de evolución definidos por estas variables**.

Las tres variables respuesta han sido consideradas en diferentes sistemas de **clasificación pronóstica**, ya que facilitan información sobre la supervivencia medida desde el momento del **diagnóstico** -realizado fundamentalmente a partir de la linfocitosis sanguínea-. Estas variables son consideradas, además, en todos los **criterios de evolución y respuesta al tratamiento** recogidos por Chesson et al. (1988).

III. ORGANIZACIÓN DEL TRABAJO.

En el **Capítulo 1** se establecen los objetivos e hipótesis de partida de nuestra investigación.

El **Capítulo 2** recoge una revisión de la clínica, diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la LLC, prestando especial atención a **las clasificaciones pronósticas y variables respuesta** objeto de nuestro estudio.

El **Capítulo 3** incluye la **descripción del protocolo LLC-80** en el que se basó la recogida de los datos longitudinales que analizaremos; en él se determina y da nombre a las **variables utilizadas en este trabajo**.

El **Capítulo 4** se dedica a la **descripción de los métodos utilizados** en el análisis de datos longitudinales y **selección justificada de la estrategia** empleada en nuestro estudio de la evolución de las variables respuesta. Dicha estrategia pasa por la selección de **submuestras para exploración y posterior contraste** de las hipótesis que se formulen.

El **Capítulo 5** incluye el **análisis preliminar o descripción del seguimiento** efectuado en los pacientes del ensayo LLC-80, que **justifica la selección de procedimientos realizada** en el capítulo anterior.

El **Capítulo 6** se dedica a la descripción y análisis de la asociación entre las características de los pacientes de la muestra de exploración al comienzo del seguimiento. Las hipótesis que resultan se exponen al comienzo del capítulo ocho.

En el **Capítulo 7** se analiza la **evolución de las variables respuesta**, utilizando los datos del seguimiento realizado sobre los pacientes incluidos en la muestra de exploración y los métodos descritos en el capítulo cuatro. El análisis facilita la **selección de diferentes modelos** para dicha evolución, que consideraremos **como hipótesis** a contrastar en el capítulo ocho.

En el **Capítulo 8** se **formulan las hipótesis** resultado del análisis exploratorio efectuado en los capítulos seis y siete y se exponen los **resultados del contraste de las mismas**, utilizando los datos iniciales y de seguimiento de los pacientes incluidos en la muestra de contraste.

En el **Capítulo 9** se **discuten los resultados y se exponen las conclusiones** de este trabajo.

Capítulo 2.

Clínica, Diagnóstico, Pronóstico y Tratamiento de
la Leucemia Linfocítica Crónica.

Durante mucho tiempo la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE) recogía un único apartado común para las Leucemias Linfocíticas. En su octava revisión, al final de la década de los 60, aparece por primera vez un código independiente para la **Leucemia Linfocítica Crónica (LLC)**, ya que varios estudios la señalaban como una entidad nosológica diferente. Las completas revisiones bibliográficas realizadas recientemente por Dighiero et al. (1991) y Molica et al. (1995) pueden consultarse para profundizar en el conocimiento de esta enfermedad.

La LLC representa entre un 22% y un 32% de todas las leucemias en países occidentales (Zigheboim y Stein, 1983; Rozman y Monserrat 1988a). Sin embargo, en China, sobre 4.174 casos de leucemia registrados entre los años 1952 y 1986, sólo el 4'6% eran pacientes de LLC. La diferencia en el porcentaje ha sido atribuida a causas de tipo genético (Boggs et al. 1987).

En EEUU, la tasa de incidencia anual ajustada por edad, sexo y raza, es de 2'6 por 100.000 habitantes. La incidencia es 1'6 veces más alta en la población de raza blanca que en el resto. Las tasas de incidencia estandarizadas por edad, para los habitantes de raza blanca de Europa, varían entre 0'2 (Polonia y Hungría) y 2'4 (Reino Unido) por 100.000 habitantes y año. En el resto del mundo, las tasas de incidencia estandarizadas por edad son

bajas en Brasil, Colombia y Puerto Rico (menores o iguales a 0'5). En Japón y China las tasas de incidencia son aún más bajas (0'1) (Linnet, 1985).

Existen pocos trabajos publicados sobre la mortalidad debida a LLC. En general, se considera que la tasa de mortalidad se incrementa con la edad, pasando de tasas muy bajas en el grupo de 35 a 44 años, hasta tasas muy altas en edades avanzadas de 85 o más (Linnet, 1985).

I. CLÍNICA DE LA LLC.

La LLC se revela, en el trabajo de Bastin et al. (1976), como una enfermedad heterogénea, con síntomas y signos muy diferentes de unos pacientes a otros. La variabilidad en sus manifestaciones se ha convertido en la característica que más resalta en esta enfermedad. A continuación, resumimos el cuadro clínico que se considera común a la mayoría de los pacientes.

A. Edad y Sexo.

La enfermedad es extraordinariamente rara en las personas de menos de 30 años. La incidencia se incrementa lentamente desde los 30 a los 50 años, aumentando más a partir de entonces (Linnet, 1985). Aproximadamente el 8% de los casos de LLC son personas jóvenes (de menos de 50 años), en los cuales la enfermedad parece tener características que la diferencian de la que se produce en sujetos de edad más avanzada (De Rossi et al. 1989). Se aprecia en general una mayor incidencia en hombres que en mujeres, en relación aproximada de 2:1 (Linnet, 1985).

B. Síntomas de Comienzo.

El comienzo clínico de la LLC es insidioso, produciéndose en la mayor parte de las ocasiones con adenopatías no dolorosas (20 - 25% de casos). Otras veces los síntomas de comienzo son de tipo general: astenia, fatiga, anorexia y disminución del peso corporal (25 - 33%). Incluso, puede ser descubierta por una linfocitosis anormal en un análisis de sangre solicitado por otra causa distinta, habiendo cursado la enfermedad de forma asintomática hasta ese momento (15 - 20 %). Las infecciones repetidas y rebeldes al tratamiento se presentan como síntoma de inicio en el 10 a 15 % de casos, siendo más rara la presentación como esplenomegalia aislada (5%) o el inicio anémico puro (Zigheboim y Stein, 1983; Rozman y Monserrat 1988a).

C. Exploración Física.

Sin ningún tratamiento, la infiltración linfocitaria hace que aumenten de grosor y se extiendan las adenopatías, sobre todo por las regiones latero-cervicales y supra-claviculares, pero también por las axilares e inguinales. La infiltración progresará pasando, desde médula ósea y sangre, a los ganglios linfáticos, y por último al bazo e hígado. Puede verse también esplenomegalia y hepatomegalia, sin infiltración de ganglios linfáticos (Dighiero et al. 1979). La infiltración de la piel puede desembocar en la formación de lesiones elevadas, papulosas, de carácter focal o difuso.

D. Recuento de Células Sanguíneas.

El número de leucocitos en sangre periférica suele ser mayor de 15 o 20×10^9 /litro, llegando con frecuencia hasta los 100×10^9 / litro, de los cuales el **80-95% está constituido por una población de “linfocitos”**. En esta población están incluidos los **linfocitos B o T normales, además de las células leucémicas** con características muy similares a linfocitos de tipo B. El número de linfocitos en sangre se puede considerar como una medida aproximada e indirecta del tamaño del tumor.

Pueden existir anemia (concentraciones bajas de hemoglobina) y/o trombocitopenia (recuento de plaquetas disminuido) moderadas, pero “por lo general los valores de concentración de hemoglobina y número de plaquetas no descienden hasta que la enfermedad progresa” (Rozman y Montserrat 1988a; Dighiero et al. 1991). La anemia es normocrómica y macrocítica o normocítica según exista, o no, un componente hemolítico. La hemólisis, si existe, se manifiesta por el aumento de reticulocitos y bilirrubina indirecta.

E. Otras Sustancias en el Suero.

Suele existir un ligero aumento de las enzimas SGOT y SGPT, debido a infiltración del parénquima hepático. La concentración de ácido úrico es, en general, normal, ya que el recambio de células leucémicas es lento; sin embargo, puede elevarse cuando se realizan terapias agresivas que producen la lisis celular. El aumento de la beta 2 microglobulina que se observa en el

suero de los pacientes de LLC ha sido señalado por Simonsson et al. (1986) como un prometedor marcador asociado a las células leucémicas.

F. Inmunología y Sistema Complemento en la LLC.

Miller et al. (1987) estudian las inmunoglobulinas del plasma analizando los patrones de electroforesis proteica (EP) disponibles en 98 de los 342 casos incluidos en un estudio de casos y controles de base poblacional. Encontraron cuatro patrones diferentes de electroforesis: el más frecuente (57%) fue el patrón normal, seguido de la hipogamaglobulinemia (28%); la hipergamaglobulinemia (11%) y la gamapatía monoclonal (3%) resultaron mucho menos frecuentes. Una importante proporción de los pacientes con hipergama-globulinemia eran de raza negra. En general se considera a la hipogamaglobulinemia como un factor favorecedor del desarrollo de todo tipo de infecciones en los pacientes de LLC.

El papel de los linfocitos T en la LLC no ha sido aclarado definitivamente. Se informa que están significativamente aumentados en pacientes no tratados previamente al compararlos con controles sanos (Kimby et al. 1987). Se describe que aumentan significativamente los T_8 en estadios clínicos más avanzados de la enfermedad. La proporción de linfocitos $T_4:T_8$ se encuentra descendida de manera significativa (Markey et al. 1986). Al incremento significativo del número de linfocitos T_8 se le atribuye la hipogamaglobulinemia, implicada en el aumento de infecciones que sufren

estos pacientes. Algunos autores mantienen que los linfocitos T están alterados en los pacientes con LLC (Lauria et al. 1983; Vitale et al. 1985; Perri y Kay 1986), mientras que otros consideran que el funcionamiento es similar en los individuos sanos y en los enfermos de LLC (Fernandez et al. 1986). Tampoco parece definitivamente aclarado el papel de la Interleucina 2, debido a que los estudios incluyen un número muy pequeño de pacientes (Foa et al. 1987; Touw et al. 1987).

Heath y Cheson (1985) describen un defecto en la activación o actividad del fragmento C3 del complemento en el suero de 15 pacientes de LLC, al ser enfrentado a diferentes bacterias, siendo normales las concentraciones de los factores C3, C4, B, proteína reactiva C y actividad hemolítica total del complemento. Sin embargo, los trabajos de Fust et al. (1987), sobre 46 pacientes, y Míszlai et al. (1986), en 69 pacientes, encuentran medias de concentración de factores C1 y C4 descendidas. Hidvegi et al. (1989) comparan los niveles de los complejos C1 INH-C1rC1s y C1q-FN (formados en etapas tempranas de la activación de la vía clásica) en el suero de 96 pacientes de LLC y 100 controles sanos. El incremento significativo de los niveles de complejos entre los pacientes de LLC se interpretó como debido a la activación de la vía clásica. Todos los autores mencionados coinciden en señalar las alteraciones del complemento como facilitadoras de las infecciones que se producen en los enfermos de LLC.

G. Complicaciones de la LLC.

Los pacientes de LLC pueden sufrir multitud de procesos sobreañadidos, destacando complicaciones infecciosas, autoinmunes -trombocitopenias y anemias hemolíticas autoinmunes-, neoplasias sólidas y tumores linforeticulares, que en general se suelen atribuir a una función inmunitaria deprimida (Sheibani et al. 1983; Linet et al. 1986; Stark et al. 1986; Travade et al. 1986; Hamblin et al. 1986; Hacking et al. 1989; Rozman et al. 1989a). Se han descrito transformaciones clínicas de la LLC a Síndrome de Richter, Leucemia Prolinfocítica, Leucemia Linfoblástica y Mieloma Múltiple, que parecen no ser transformaciones clonales sino enfermedades secundarias independientes, siendo necesario un estudio más profundo de este tema (Foon y Gale 1988).

II. ANATOMÍA PATOLÓGICA DE LA LLC.

A. Las Células Sanguíneas.

Basándose en el análisis de la morfología de las células sanguíneas y las alteraciones observadas en la médula ósea de 110 pacientes diagnosticados de todo tipo de leucemia, Bennett et al. (1989) consideran que para realizar el diagnóstico anatomopatológico de LLC no es necesario el estudio de la médula, pudiéndose realizar dicho diagnóstico mediante un análisis microscópico aislado de la morfología celular en sangre periférica. Además, afirman que el interés del conocimiento de los marcadores de membrana de las células sanguíneas sólo es útil en el diagnóstico de los pacientes con linfocitosis inferiores a $5 \cdot 10^9/l$, o para excluir el padecimiento de otras enfermedades.

La nueva clasificación del grupo cooperativo FAB (Bennett et al. 1989) distingue dos tipos de LLC: la Típica, en la que no se detectan prolinfocitos, y la Mixta, que se caracteriza por la existencia de tales células. Los prolinfocitos son células que se diferencian por tener una Ig. de superficie muy abundante, no formar rosetas con hematies de ratón y reaccionar con el anticuerpo monoclonal FMC 7. Dentro de la LLC Mixta se distinguen dos subtipos: el I, o Leucemia Linfocítica Crónica/Prolinfocítica (LLC/PL), con un porcentaje de prolinfocitos comprendido entre el 11 y el 55%, y el subtipo II, con menos del 10% de estas células. En la **Tabla 1** se resume esta clasificación.

Tabla 1. Nueva Clasificación FAB de la LLC (Bennett et al. 1989).

Características	LLC Típica	LLC Mixta	
		Tipo I (LLC/PL)	Tipo II
Sangre Periférica.			
Linfocitos.			
Tamaño	Pequeños.	Pequeños.	Grandes y Pequeños.
Basofilia Citop.	Débil.	Débil.	Más intensa.
Relación entre Núcleo/Citoplasma	Alta.	Alta.	Más baja.
Prolinfocitos.			
	No se detectan	Más de un 10% y menos de 55%	Menos del 10%

B. La Médula ósea en la LLC.

La hipercelularidad por infiltración linfocitaria es una de las características de la médula ósea de los pacientes con LLC (Bennett et al. 1989). Varios han sido los autores que estudian los patrones de infiltración mediante biopsia de médula ósea. Hernández-Nieto et al. (1977a, 1977b) distinguen los cuatro siguientes:

1. Nodular: se observan nódulos linfoides más grandes que los folículos linfoides normales. No hay infiltración intersticial y las células grasas están conservadas.
2. Intersticial: existe cierto grado de infiltración por linfocitos maduros, con preservación de las células grasas y de la estructura medular normal.
3. Mixto: representa la combinación de los dos patrones previos.
4. Difuso: la infiltración linfoide es difusa con sustitución masiva tanto del tejido hematopoyético normal, como de células grasas.

En general, los autores que estudian el pronóstico de la LLC agrupan los cuatro patrones anteriores en sólo dos, denominados Difuso y No Difuso, incluyendo en este último los patrones Nodular Intersticial y Mixto. Rozman et al. (1984a) analizan los factores que aumentan la probabilidad de encontrar un patrón difuso en la biopsia de médula ósea de los pacientes con LLC. Dichos factores de mayor a menor importancia son los siguientes:

1. Anemia.
2. Número de Aéreas Ganglionares Afectadas.
3. Linfocitosis.
4. Esplenomegalia.
5. Trombopenia.

Los patrones descritos anteriormente son los más aceptados en general, aunque no son únicos. Frisch y Bartl (1988) recogen 14 trabajos publicados entre 1974 y 1986, que describen diferentes patrones de infiltración de la

médula ósea en pacientes de LLC: el número de patrones distintos oscilaba entre dos y cinco. Ambos autores estudian además 503 pacientes de LLC no tratados previamente, reconociendo dos modos de infiltración: Intersticial y Nodular, que evolucionan hacia el denominado patrón difuso. Esta evolución ha sido confirmada mediante estudios de biopsias secuenciales (Montserrat et al. 1985a).

C. Las Adenopatías en la LLC.

El estudio histológico de los ganglios linfáticos no suele realizarse de manera rutinaria a los pacientes de LLC. Bennett et al. (1989) consideran que éste es necesario únicamente cuando el fenotipo de membrana es muy diferente del típico en la LLC, o si la morfología sugiere un Linfoma no Hodgkiniano. Se suele observar un patrón de estructura difusa salpicado de zonas pseudofoliculares, con algunos elementos linfoides de talla mayor. El significado clínico y pronóstico de la biopsia de los ganglios linfáticos no está claro, debido a que los estudios realizados incluyen un número muy reducido de pacientes (Raphael et al. 1988a).

III. CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO E INCLUSIÓN EN ENSAYOS CLÍNICOS.

Un ensayo clínico es un experimento que se propone comparar varios procedimientos terapéuticos para cierta enfermedad de interés -la LLC en nuestro caso-, definida mediante **criterios de diagnóstico**. La población objetivo del ensayo está compuesta por los individuos que cumplen dichos criterios, pero, además, se delimita mediante los denominados **criterios de inclusión** en el experimento. La estandarización internacional de todos estos criterios permite la comparación entre los resultados de diferentes ensayos, facilitando la evaluación de los nuevos trabajos científicos; por otra parte, avala la administración del tratamiento en la clínica diaria, respetando las condiciones del experimento que permitió aceptar su interés (Cheson 1988a). Las ventajas de la estandarización se pueden extender también a los criterios para valorar la actividad de la enfermedad, su evolución o la respuesta al tratamiento.

A. Criterios de Diagnóstico.

Existen dos publicaciones recientes que ofrecen criterios para el diagnóstico e inclusión de pacientes en ensayos de LLC. Cheson et al. (1988) recopilan las recomendaciones de un grupo patrocinado por el "National Cancer Institute", reconociendo los esfuerzos realizados previamente -en 1973 por el "Chronic Leukemia-Myeloma Task Force", y en 1978 por el "Cancer and Leukemia group B"- . El "International Workshop on CLL" (IWCLL 1989) publica

también sus criterios diagnósticos. Cheson et al. (1989) comparan sus propios criterios diagnósticos con los del “International Workshop on CLL”, comprobando que la principal diferencia radica en el nivel mínimo de linfocitosis en sangre periférica, existiendo algunas otras diferencias en criterios de remisión y progresión de la enfermedad. Tales diferencias resultan mínimas (**Tabla 2**) comparadas con la importancia de la estandarización de los criterios en los ensayos clínicos, por lo que se deberían estudiar a fondo para intentar llegar a un total acuerdo.

Tabla 2. Criterios para el Diagnóstico de la LLC.

Cheson et al. (1988)	IWCLL (1989)
<p>1. Linfocitosis:</p> <ul style="list-style-type: none"> · Límite inferior $5 \times 10^9 / l$. · Reconocen que la mayoría de casos debe superar la cifra de $15 \times 10^9 / l$. 	<p>1. Linfocitosis:</p> <ul style="list-style-type: none"> · Límite inferior $10 \times 10^9 / l$. · Para cifras inferiores se precisa estudio cuidadoso de células leucémicas.
<p>2. Fenotipo de Cél. Leucémicas:</p> <ul style="list-style-type: none"> · Marcador CD-5. · Relación entre cadenas Kappa y Lambda. · Baja densidad de Ig. de superficie. 	
<p>3. Morfología Linfocitaria.</p> <ul style="list-style-type: none"> · Menos del 55% de células linfocíticas atípicas y/o Prolinfocitos. 	<p>3. Morfología Linfocitaria.</p> <ul style="list-style-type: none"> · Remiten a la nueva clasificación FAB (Bennett et al. 1989)
<p>4. Examen de Médula Ósea.</p> <ul style="list-style-type: none"> · Aspirado unilateral con un 30% o más de linfocitos entre todas las células nucleadas. · Cualquier patrón en la biopsia medular unilateral. 	<p>4. Examen de Médula Ósea.</p> <ul style="list-style-type: none"> · Aspirado con un 30% más de linfocitos entre todas las células nucleadas. · El patrón histológico de la biopsia puede ser de interés en el diagnóstico.

1. La Población Linfocítica en Sangre Periférica.

La linfocitosis en sangre periférica continúa siendo el principal criterio diagnóstico en la LLC. Chanarin et al. (1984) estudiaron el significado de la linfocitosis persistente y aislada de otros síntomas (adeno, espleno, hepatomegalias) que se presentó en 19 pacientes: en 11 se diagnosticó una LLC, mientras que los ocho restantes presentaban un aumento de linfocitos T, probablemente reactivo. Los seis pacientes que presentaban una linfocitosis mayor de 10×10^9 fueron diagnosticados de LLC; sin embargo, sólo 5, de los 13 pacientes con cifras de linfocitos inferiores a 10×10^9 , presentaban dicha enfermedad. Los autores concluyen que la linfocitosis aislada en adultos no es base suficiente para diagnosticar una LLC en estadio evolutivo temprano. Esta circunstancia es la que tiene en cuenta el IWCLL, ya que en el caso de observar linfocitosis menores de 10×10^9 / l exige la caracterización cuidadosa de la población linfocitaria B, mediante el estudio del fenotipo de membrana.

2. Estudio de la médula ósea.

El análisis de la médula ósea mediante aspirado suele mostrar muy precozmente un infiltrado linfocítico sin apenas actividad mitótica y con morfología idéntica a la sanguínea. La biopsia medular mostrará alguno de los patrones histopatológicos ya recogidos en el apartado correspondiente a la anatomía patológica de la LLC. Dichos procedimientos resultan sin embargo

agresivos y molestos para el paciente. Las recientes técnicas de exploración no agresivas de la médula ósea, como la resonancia magnética (Linden et al. 1989), deben ser aún exploradas e investigadas cuidadosamente antes de ser aceptado su papel en el diagnóstico de la LLC.

B. Criterios de Exclusión y Diagnóstico Diferencial.

Se especifican a continuación las seis enfermedades que deben ser descartadas antes de incluir a un paciente dentro de un ensayo clínico sobre LLC (Chesson et al. 1988):

1. Leucemia Linfocítica Crónica de células T: alcanza sólo al 1-2% de todas las leucemias, produciéndose con más frecuencia en varones adultos. Se presentan linfocitos más grandes que los de la LLC-B, con citoplasma abundante y granulaciones azurófilas.
2. Leucemia Prolinfocítica B: las características de esta enfermedad han sido estudiadas recientemente en comparación con la LLC (Melo et al. 1986a, 1986b, 1986c, 1987). Suele presentarse en varones con edad más avanzada y con linfocitosis más altas que las que se observan en los pacientes de LLC-B. Melo et al. distinguen la LLC-B típica, con menos de un 10% de prolinfocitos en sangre periférica, la LLC/PL cuadro intermedio que presenta entre 11 y 55% de prolinfocitos y la leucemia prolinfocítica que presenta más de 55% de prolinfocitos.

3. Tricoleucemia: caracterizada por la aparición de células de aspecto linfoide con finas prolongaciones citoplasmáticas (pelos). Otros dos rasgos bastante uniformes entre estos pacientes son la pancitopenia y la positividad de la fosfatasa ácida (que no se inhibe con el ácido l-tartárico a diferencia de la de los linfocitos normales y de la LLC-B).
4. Síndrome de Sezary: existe proliferación de células T de tipo colaborador que producen infiltrados en la piel y otros órganos. Es característica la aparición de células de carácter linfoide y núcleos cerebriformes. Si no existe expresión leucémica el diagnóstico se puede hacer mediante biopsia de piel.
5. Leucemia/Linfoma T: producida por el retrovirus HTLV I, con caracteres de endemia en el sur del Japón, Caribe y Africa. Presenta una leucocitosis con hipercalcemia característica. La histología ganglionar corresponde a un linfoma difuso pleomórfico.
6. Manifestaciones leucémicas de otros muchos procesos, por ejemplo las alteraciones de los ganglios linfáticos.

Otros pacientes que no deben ser incluidos en los ensayos clínicos sobre la LLC, según el criterio de Chesson et al. (1988), son los siguientes:

1. Pacientes con infección activa: es necesario el tratamiento con antibióticos hasta que desaparezca el proceso infeccioso, antes de considerar su inclusión.
2. Mujeres embarazadas y pacientes que sean HIV positivos.

C. Criterios para el Diagnóstico de Enfermedad Activa.

Los criterios para considerar la enfermedad activa según Chesson et al. (1988) son los siguientes :

1. Presentar uno de los síntomas:
 - a. Pérdida de al menos un 10% de peso en los seis últimos meses.
 - b. Fatiga extrema o incapacidad para realizar actividades cotidianas.
 - c. Fiebre de más de 38°C durante dos semanas sin evidencia de infección.
 - d. Sudor nocturno sin evidencia de infección.
2. Signos de fallo medular evidenciado por el desarrollo o agravación de anemia y/o trombocitopenia.
3. Anemia y/o Trombocitopenia de origen autoinmune con una respuesta pobre a la corticoterapia.
4. Esplenomegalia masiva (mayor de 6 cm. por debajo del reborde costal) o progresiva.
5. Linfadenopatía masiva (mayor de 10 cm. de diámetro mayor) o progresiva.
6. Linfocitosis progresiva con un incremento de más del 50% en un período de 2 meses, o un tiempo anticipado de doblar linfocitos de menos de 6 meses.
7. Hipogammaglobulinemia marcada o desarrollo de proteinuria monoclonal.

IV. PRONÓSTICO DE LOS PACIENTES CON LLC.

Durante mucho tiempo se consideraba que la evolución de los pacientes con LLC no se podía predecir. Los pacientes podían vivir varios años o sólo unos meses después del diagnóstico. La búsqueda de factores relacionados con la supervivencia de los enfermos es fundamental ya que permite identificar grupos de pacientes en los cuales la enfermedad tiene una presentación, agresividad y evolución similares. La identificación de dichos grupos permite adecuar el tratamiento, con medidas más o menos agresivas, según el peor o mejor pronóstico del paciente. Se comentan a continuación los factores pronóstico que han sido ya ampliamente reconocidos, junto con otros cuyo interés pronóstico debe ser contrastado en el futuro.

A. Factores Pronóstico ampliamente reconocidos.

Diversos autores han propuesto, a lo largo del tiempo, diferentes clasificaciones de significado pronóstico para los pacientes con LLC. En dichas clasificaciones se aprecia una amplia coincidencia en las variables consideradas factores pronóstico: adenomegalias, hepatomegalia, hemoglobina y plaquetas en sangre periférica (Rai et al. 1975; Binet et al. 1981; IWCLL 1981; Rozman et al. 1984b).

La consideración de la linfocitosis como variable de significado pronóstico ha sido enfatizada por múltiples autores (Rozman et al. 1982; Catovsky et al. 1989); sin embargo, Han et al. (1984a) describen lo que

denominan “Linfocitosis Benigna de Células B Monoclonales”, que se caracteriza por supervivencias muy largas en pacientes cuya linfocitosis al diagnóstico era indistinguible de las que presenta el resto de los pacientes de LLC.

La proliferación de clasificaciones pronósticas para la LLC es debida a la gran variabilidad evolutiva, característica de esta enfermedad. Presentamos a continuación aquellas clasificaciones que son más utilizadas en la clínica diaria y reconocidas de interés pronóstico en la realización de ensayos clínicos sobre LLC (Chesson et al. 1988; IWCLL 1989).

B. Clasificación de Rai et al. (1975).

Esta clasificación se basa en datos clínicos y hematológicos de fácil obtención. La clasificación distingue cinco estadios que resumimos en la ? y comentamos a continuación:

1. El **estadio 0** se define por la presentación de linfocitosis; tanto en sangre periférica, como en la médula ósea.
2. En el denominado **estadio I**, además de linfocitosis, se encuentran adenomegalias.
3. En el **estadio II**, junto a la linfocitosis, se constata un aumento del tamaño del hígado o del bazo, o incluso de ambos a la vez, con presencia o ausencia de adenopatías.

4. El denominado **estadio III** está caracterizado por la existencia de linfocitosis con anemia, pudiendo coexistir con adenopatías y/o hepatoesplenomegalia.

5. Por último, el **estadio IV** se caracteriza por linfocitosis y trombocitopenia, con datos característicos de los estadios I, II y III, o sin ellos.

Tabla 3. Clasificación pronóstica de Rai et al. (1975).

ESTADIO	CRITERIO.	SUPERVIVENCIA MEDIANA (meses)
0	Más de 15×10^9 linfocitos / litro en sangre. Más del 40 % de linfocitos en la médula ósea.	150
I	Adenomegalias.	101
II	Hepatoesplenomegalia.	71
III	Anemia.	19
IV	Trombocitopenia $< 100 \times 10^9$ / litro.	19

El diagnóstico y clasificación de un paciente por el método de Rai requiere un hemograma completo con recuento de linfocitos, plaquetas y concentración de hemoglobina. Además, es necesario un estudio clínico para buscar adenopatías, hepato y/o esplenomegalia.

Poco tiempo después de que Rai propusiera su clasificación, un estudio realizado por Bastin et al. (1976) mostraba una correlación grande entre la citopenia y la esplenomegalia con la supervivencia de los pacientes de LLC. Asimismo se hacía mención de que la proliferación de las adenomegalias era una variable médica importante a tener en cuenta en la LLC.

C. Clasificación de Binet et al. (1981).

Debido a la imperfecta relación observada entre los estadios propuestos por las clasificaciones previas y la supervivencia de los pacientes, Binet et al. (1981) proponen una nueva clasificación pronóstica de la LLC. Esta nueva clasificación se realizó a partir de un estudio que incluía dos series de pacientes: una retrospectiva de 96 pacientes y otra prospectiva de 196 pacientes. El análisis de los datos -de mejor calidad- de la serie prospectiva se realizó en primer lugar, utilizándose los datos de la retrospectiva para la confirmación de los resultados. La clasificación considera tres estadios pronóstico: A, B y C, cuyas características se resumen en la **Tabla 4**.

En el **estadio A** se incluyen todos aquellos pacientes con una hemoglobina mayor o igual a 100 gramos por litro, número de plaquetas mayor o igual a 100×10^9 /litro y **menos de tres áreas afectadas**. Las áreas consideradas en la clasificación ABC, son las siguientes: 1. bazo, 2. hígado (≥ 14 cm), 3. región ganglionar cervical, 4. región ganglionar axilar y 5. región ganglionar inguinal. Para las tres últimas (3,4,5), la clasificación no hace distinción de que la afectación sea uni o bilateral. La supervivencia de los pacientes en estadio A no difiere de la que tiene la población francesa normal de la misma edad y sexo. Sin embargo, Rozman et al. (1984d) concluyen que la LLC sí acorta la vida, ya que la supervivencia -ajustada por edad y sexo- de la población española es más larga que la de los pacientes de dicha enfermedad, aún en los estadios más leves (0,I de Rai o A de Binet).

Las condiciones que requiere la inclusión de un paciente en el **estadio B** son las mismas, en cuanto a hemoglobina y plaquetas, que las del estadio A; el paciente debe presentar además adenopatías, hepato o esplenomegalia palpables en **tres o más aéreas**. La mediana de supervivencia de los pacientes en estadio B es de seis años.

La inclusión de pacientes en el **estadio C**, requiere la existencia en sangre periférica de cifras de hemoglobina menores de 100 g/l y/o recuento plaquetario inferior a 100×10^9 /litro. El número de áreas ganglionares con adenopatías no tiene interés para la inclusión del paciente en este estadio. La mediana de supervivencia de los pacientes en estadio C es de dos años.

Tabla 4. Clasificación pronóstica de Binet et al. (1981).

CARACTERÍSTICAS DEL PACIENTE		ESTADIO PRONÓSTICO	MEDIANA DE SUPERVIVENCIA
Hemoglobina ≥ 100 g / l y Plaquetas $\geq 100 \times 10^9$ / l.	Menos de 3 áreas afectadas.	A	No hay diferencia con la población francesa de la misma edad y sexo.
	3 o más áreas afectadas.	B	6 años.
Hemoglobina <100 g / l y/o Plaquetas < 100×10^9 / l.	Cualquier número de áreas afectadas.	C	2 años.

La clasificación de un paciente mediante el método de Binet exige un examen clínico para precisar el número de áreas afectadas, el recuento plaquetario, y la determinación de la cantidad de hemoglobina en sangre periférica.

Chastang et al. (1985) analizan las posibles objeciones que podrían hacerse a la clasificación ABC. Dichas objeciones pueden provenir del origen de los datos y la arbitrariedad al seleccionar las variables y los valores de éstas que se utilizan para definir los estadios. Respecto al origen de los datos, la validación realizada sobre 4 series (recogidas en Francia, España y Dinamarca), con un total de 611 pacientes, muestra resultados concordantes con la clasificación ABC. Los criterios de selección de variables fueron su relación con la supervivencia -mediante el modelo de Cox- y la facilidad de uso en la clínica. Los mismos autores recogen las ventajas que aporta la clasificación ABC sobre las anteriores:

1. Facilita la realización de ensayos clínicos, debido al menor número de estadios que considera. Todas las clasificaciones anteriores incluían 4 estadios o más.
2. Es clara y sencilla de utilizar desde el punto de vista clínico.
3. Es la primera que está basada en los resultados de un análisis multivariante de datos de supervivencia de pacientes con LLC.

D. Clasificación del “International Workshop on CLL”.

La clasificación propuesta en el “International Workshop on CLL” es denominada genéricamente como Clasificación Internacional (IWCLL 1981). Consiste en la fusión de las clasificaciones de Rai et al. y Binet et al. (ABC), agrupando los estadios de la forma que se expone en la **Tabla 5**. En el mismo documento, se recomienda buscar subgrupos de pacientes con diferente pronóstico dentro de cada uno de los estadios de la clasificación ABC. Son muy numerosos los autores que estudian la posible influencia de múltiples variables sobre la supervivencia de los pacientes con LLC. A continuación, se comentan diferentes factores relacionados con la supervivencia de la LLC que no son utilizados en las clasificaciones mencionadas hasta el momento.

Tabla 5. Clasificación pronóstica Internacional de la LLC.

ESTADIO	DEFINICION
A (0)	Pacientes con características de los estadios A de Binet y 0 de Rai.
A (I)	Pacientes con características de los estadios A de Binet y I de Rai.
B (I)	Pacientes con características de los estadios B de Binet y I de Rai.
B (II)	Pacientes con características de los estadios B de Binet y II de Rai.
C (III)	Pacientes con características de los estadios C de Binet y III de Rai.
C (IV)	Pacientes con características de los estadios C de Binet y IV de Rai.

E. Valor pronóstico de las variables Edad y Sexo.

La edad y el sexo como factores pronóstico han sido puestos de manifiesto por múltiples autores (Rai et al. 1975, Rozman et al. 1982). Lee et al. (1987) consideran la variable edad como una medida del deterioro general del organismo en el momento del diagnóstico y la seleccionan como factor pronóstico en su modelo de supervivencia para los 325 pacientes de su estudio. Bennett et al. (1988), en un estudio sobre 22 pacientes de LLC con edades por debajo de 50 años -entre los que sólo uno era mujer-, observan que, a pesar de ser más frecuente la clasificación de estos pacientes en estadios clínicos de alto riesgo sus supervivencias son mejores que las de los pacientes con edades superiores a 50 años. Catovsky et al. (1989), estudiando una cohorte de 660 pacientes de LLC, ponen de manifiesto que la edad es el factor pronóstico principal después de los sistemas de clasificación clínica.

La evidencia a favor de un mejor pronóstico de las mujeres con LLC se resume en: menor incidencia, mayor frecuencia de clasificación en estadios de bajo riesgo, y una supervivencia más larga independiente de la edad o estadio (Rai et al. 1975; Lee et al. 1987; Catovsky et al. 1989).

F. La Biopsia Medular en el Pronóstico de la LLC.

El carácter pronóstico pernicioso del patrón de infiltración medular difuso fue puesto de manifiesto por Gray et al. (1974). Montserrat y Rozman (1983) resaltan la correlación existente entre los patrones de infiltración

medular y los estadios clínicos de las clasificaciones de Rai y Binet. Esta correlación obliga a considerar el interés de realizar al paciente una prueba cruenta como la biopsia de médula ósea, cuando la información que aporta es en gran medida redundante si se conocen los estadios clínicos.

El valor pronóstico del patrón de infiltración medular queda patente en el artículo de Rozman et al. (1984c), que propone una clasificación clínico patológica combinada basada en la clasificación clínica ABC y los patrones de infiltración medular difuso y no difuso mencionados anteriormente. En ese trabajo, se pone de manifiesto que, si se toman de forma independiente las variables consideradas posibles factores pronóstico, el patrón de infiltración medular aislado es el mejor factor pronóstico. Los mismos autores (Rozman et al. 1985) se plantean qué sistema de clasificación resulta mejor, si el basado en estadios clínicos o en la histopatología medular aislada, concluyendo que, a pesar de la correlación existente entre los estadios clínicos y los patrones de infiltración (difuso, no difuso), estos últimos conservan un valor pronóstico adicional. Geisler et al. (1986) y Pangalis et al. (1987) respaldan parcialmente en sus respectivos estudios el valor pronóstico adicional de los patrones de médula ósea. Sin embargo, otros autores (Han et al. 1984b; Raphael et al. 1988b; Desablens et al. 1989) no encuentran el valor pronóstico adicional de dichos patrones, aunque consideran que pudieran ser de utilidad para predecir la progresión de los pacientes en estadios precoces (A) hacia estadios de peor pronóstico (B o C). Esta situación polémica pone de manifiesto la imperfección de los actuales sistemas de clasificación. En el futuro será necesario estudiar la posibilidad de incluir nuevos factores pronóstico, que permitan mejorar los actuales sistemas de estadiaje.

En cuanto a otras posibles variables medidas mediante biopsia medular, cabe resaltar la morfología predominante en las células del infiltrado medular; que se ha relacionado con la supervivencia de los pacientes de LLC, aunque los resultados deben ser más ampliamente comprobados (Frisch y Bartl 1988).

G. Los estudios Citogenéticos y su valor pronóstico.

Incluso cuando utilizamos mitógenos específicos para las células linfocíticas B, no siempre es posible conseguir mitosis adecuadas para el estudio del cariotipo de las células leucémicas en todos los pacientes de LLC. A pesar de estas dificultades, parece existir acuerdo entre los autores consultados (Pittman y Catovsky 1984; Han et al. 1984c, 1985, 1987; Juliusson y Gahrton 1985; Oscier et al. 1988) para admitir que el estudio del cariotipo de las células leucémicas B aporta información de interés para el pronóstico de los pacientes de LLC: los cariotipos aberrantes y porcentajes altos de metafases anormales se asocian a estadios clínicos de mal pronóstico en la clasificación de Rai. Las anomalías en el cariotipo, incluyendo o no la trisomía 12 y/o la translocación 14q+, se asocian a supervivencias más cortas. Oscier et al. (1988) no encuentran sin embargo diferencias significativas en la supervivencia de los pacientes con y sin alteraciones cariotípicas, concluyendo que son necesarios estudios más largos y con un número mayor de pacientes para poder verificar la relación entre las anomalías del cariotipo y la supervivencia.

H. El Tiempo Hasta que se Dobla el Número de Linfocitos.

En 1981 Jakšić y Vitale propusieron un sistema de clasificación pronóstica denominado "Total Tumor Mass score" (TTM), posteriormente validado por Molica y Alberti (1986), que incluía en su definición la raíz cuadrada del número de linfocitos en sangre periférica y otras dos variables que permiten valorar el infiltrado linfocitario de los distintos órganos: el diámetro mayor (en centímetros) de la mayor adenomegalia y los centímetros que el hígado rebasaba el reborde costal. Los mismos autores proponían el estudio del tiempo que tardaría en doblarse el TTM, como factor pronóstico de la LLC.

Recogiendo la idea anterior, Montserrat et al. (1986) estudian el tiempo hasta que se dobla el número de linfocitos en sangre periférica -"Lymphocyte Doubling Time" (LDT)-, concluyendo que la supervivencia de los pacientes cuyo LDT es menor de 12 meses es peor que la de aquellos con LDT superiores. El valor pronóstico del LDT ha sido reconocido por otros autores (Molica y Alberti 1987 y Viñolas et al. 1987). La medición de esta variable necesita un período de observación del paciente, previo a la administración de cualquier tratamiento, que es poco justificable en estadios de alto riesgo, pero podría realizarse en los pacientes en estadio A. El método de regresión lineal que se utiliza para calcular el LDT implica, para los pacientes que no hayan doblado el número de linfocitos en el período previo de observación, una extrapolación lineal. Además, el LDT no puede ser calculado en los pacientes que presenten durante el período previo al tratamiento pendientes negativas para la evolución temporal de los linfocitos -de hecho estos pacientes son eliminados en los estudios antes mencionados-.

I. Otros posibles factores pronóstico.

Los estudios sobre la relación de la morfología del núcleo de los linfocitos con la mortalidad ofrecen resultados contradictorios. Mientras que Ralfkiaer et al. (1983) encuentra tasas de mortalidad muy aumentadas entre los pacientes que presentaban irregularidades en el núcleo de los linfocitos, Gani y Krause (1986) no encuentran diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia de los pacientes con y sin clivados nucleares.

No parece existir relación de la supervivencia con el fenotipo inmunoglobulínico en la superficie de las CL (Bonhomme et al. 1987), ni tampoco con la existencia de autoanticuerpos contra eritrocitos o plaquetas (De-Rosi et al. 1988).

En cuanto a las proteínas sanguíneas, Rozman et al. (1988) concluyen que los niveles de Ig. A, Ig. G por debajo de lo normal, y una gammaglobulina inferior a 700 mg/dl se asocian de forma significativa a supervivencias más cortas; en el análisis multivariante sólo se mantiene la relación significativa para los niveles bajos de Ig A.

J. Factores Pronóstico Tiempo Dependientes.

Hemos considerado hasta aquí las variables medidas al diagnóstico y su posible relación con la supervivencia de los pacientes de LLC. La supervivencia de estos enfermos suele ser por lo general suficientemente larga

como para poder realizar dos o más balances hematológicos y clínicos del mismo paciente. La cuestión que surge es si la evolución temporal de las variables aporta alguna información sobre la supervivencia de los enfermos. Rozman et al. (1989b) estudian los efectos de tratar una variable tiempo dependiente -respuesta al tratamiento- de la misma forma que si fuera una variable inicial, concluyendo que es de suma importancia separar con claridad los factores pronóstico iniciales de los que son tiempo dependientes, para evitar llegar a conclusiones erróneas sobre la importancia pronóstica de los últimos. Dichos factores pronóstico tiempo dependientes han sido escasamente investigados hasta el momento; de hecho, tampoco se ha estudiado con precisión la evolución temporal de los pacientes no tratados -historia natural de la enfermedad- o sometidos a algún tipo de tratamiento.

Los dos factores tiempo dependientes que pueden ser de más importancia en relación con la supervivencia son **la respuesta al tratamiento y la progresión de la enfermedad**. Los primeros trabajos que pretenden estudiar la respuesta al tratamiento como variable pronóstica, se enfrentan a la dificultad de la falta de criterios estándar para valorar la evolución y la necesidad de emplear métodos complejos de análisis de supervivencia (Vitale et al. 1985). Con la utilización de mejores métodos de diagnóstico, la LLC está detectándose en estadios más precoces (estadio A de Binet), haciendo muy importante el estudio de la progresión de la enfermedad, entendida como cambio en el estadiaje clínico del paciente hacia estadios de peor pronóstico. Montserrat et al. (1988) encuentran relación entre la progresión de la LLC y algunas variables iniciales como la hemoglobina inferior a 130 g/l, linfocitosis

superiores a $30 \times 10^9 / l$ y LDT menor de 12 meses. Pangalis et al. (1988) también relacionan la progresión de la LLC con la infiltración en la médula ósea. Por otra parte, Chevret (1989) realiza un estudio del tiempo hasta que se produce el cambio de estadio pronóstico, llegando a conclusiones similares a las de Montserrat et al. (1988).

Todos estos estudios permiten diferenciar la leucemia linfocítica crónica indolente (“smouldering CLL”), aunque los criterios de definición no son homogéneos. Los pacientes con LLC indolente tienen una probabilidad muy baja de evolucionar hacia estadios de peor pronóstico B o C (FCGCLL 1990a; Molica 1991; Molica et al. 1995).

V. TRATAMIENTO DE LA LLC.

A. Ensayos Clínicos: Criterios de Valoración de Tratamientos.

Los ensayos clínicos utilizan fundamentalmente dos tipos de criterios de valoración de tratamientos: la supervivencia y la respuesta clínica. La utilización de criterios de respuesta clínica para la valoración de tratamientos presenta el problema de la falta de estandarización. Además, el análisis a realizar depende del tiempo de seguimiento, lo que pocas veces es tenido en cuenta (Rozman y Montserrat 1988b). En general, los autores consultados consideran la supervivencia como el criterio de valoración de tratamientos y objetivo terapéutico privilegiado, juzgando mejor el tratamiento que consigue alargar más la vida de los pacientes (Rozman y Montserrat 1989).

Cheson et al. (1988) ofrecen una interesante recopilación de los diferentes criterios de evolución y respuesta al tratamiento que han sido utilizados a lo largo del tiempo en los distintos ensayos clínicos sobre LLC, distinguiendo tres tipos diferentes de respuesta clínica: completa, parcial y enfermedad progresiva. Los criterios expuestos por el IWCLL (1989) añaden a dichas respuestas la de enfermedad estable. Los criterios de Remisión Completa (RC) de Cheson et al. (1988) y del grupo IWCLL resultan ser bastante similares, pero Cheson exige que la situación se mantenga durante un período de dos meses (**Tabla 6**).

Tabla 6. Criterios de Remisión Completa.

Clinica.	<ul style="list-style-type: none">- Ausencia de síntomas generales.- Resolución o ausencia de adenopatías.- Bazo e Hígado no palpables.
Sangre Periférica	<ul style="list-style-type: none">- Cifra de polimorfonucleares mayor o igual a $1'5 \times 10^9 / l$.- Cifra de plaquetas mayor de $100 \times 10^9 / l$.- Cifra de hemoglobina (sin transfusión) mayor de 110 gr / l.- Cifra de linfocitos en sangre menor o igual a $4 \times 10^9 / l$.
Médula Ósea.	<ul style="list-style-type: none">- Biopsia y aspirado normales.

Las diferencias entre los dos criterios expuestos se manifiestan a la hora de considerar las denominadas Respuesta Parcial (RP), Enfermedad Progresiva (EP) y Enfermedad Estable (EE). Para Chesson et al. (1988), la RP consiste en una mejoría del 50 % en las mismas variables utilizadas para definir la RC, mientras que el IWCLL (1989) especifica que debe producirse un cambio de estadio del paciente pasando de estadios con peor pronóstico a estadios de mejor pronóstico. También son diferentes los criterios para definir EP. Chesson et al. definen la EP como un empeoramiento del 50% en las mismas variables utilizadas para definir la RC, mientras que, para el IWCLL, ésta implica un cambio de estadio del paciente hacia estadios de peor pronóstico. La falta de cambio en el estadiaje del paciente define para el IWCLL lo que constituye la EE, que no es considerada por el grupo de Chesson.

B. Valoración de Ensayos Clínicos sobre LLC.

Rozman y Montserrat (1984b) exponen las dificultades encontradas al tratar de valorar los diferentes estudios sobre tratamiento de la LLC: carencia de estratificación pronóstica, inclusión de pacientes tratados previamente, falta del grupo control, no hacer de forma aleatoria la asignación de tratamiento y la utilización de distintos criterios de evaluación de los tratamientos en estudio.

Los estudios sin estratificación pronóstica asignan el tratamiento a los pacientes sin tener en cuenta cuál es su estadio pronóstico, impidiendo en consecuencia la adecuación del tratamiento administrado al mayor o menor riesgo de muerte del paciente.

La inclusión en un ensayo de enfermos tratados previamente junto con pacientes no tratados antes plantea problemas de comparabilidad y dificulta la interpretación de los resultados del estudio. En general, dichos tratamientos no están correctamente documentados y difieren en dosis, duración y otras características.

La falta de grupo control impide tener el necesario punto de apoyo y referencia en la comparación de tratamientos (consideramos la abstención terapéutica como un tratamiento más). Si existe el grupo control en el estudio, pero la asignación del tratamiento no se ha efectuado de forma aleatoria, corremos el riesgo de introducir sesgos o desbalances -en los factores pronóstico, conocidos o no- entre los grupo de control y tratamiento/s.

A continuación se exponen algunas recomendaciones para el tratamiento de la LLC, basadas en los resultados de diferentes ensayos clínicos bien diseñados.

C. Cuándo tratar la LLC.

En pacientes clasificados en los estadios B o C -con supervivencias más cortas que la población general-, los riesgos de utilizar un tratamiento agresivo se ven contrarrestados por la gran virulencia de la enfermedad, y en consecuencia el tratamiento debe comenzarse lo antes posible tras el diagnóstico.

La supervivencia de los pacientes en estadio A suele estar poco o nada acortada, lo que nos obliga a ser más cautos a la hora de administrar tratamiento. Además, la administración de clorambucil a estos pacientes ha mostrado un efecto paradójico, ya que evita la evolución hacia estadios más avanzados (B o C), pero asimismo parece acortar la supervivencia (FCGCLL 1988a). No está definitivamente aclarado si en el estadio A es necesario aplicar tratamiento, ni si se debe tratar a todos o sólo a algunos de estos pacientes; tampoco está claro cuál sería el momento en que debería, en su caso, iniciarse la terapia (FCGCLL 1991). Rozman y Montserrat (1989) recomiendan no tratar con agentes citotóxicos a los pacientes en estadio A durante al menos tres meses tras el diagnóstico, a no ser que se presente alguna de las siguientes circunstancias: linfocitosis mayor de $30 \times 10^9/l$, LDT menor de 12 meses, patrón de infiltración difuso en médula ósea, hemoglobina

en sangre menor de 12'5 g/dl, edad menor de 50 años y/o anormalidades citogenéticas complejas. Durante el período de tres meses puede ser de interés utilizar modalidades de tratamiento encaminadas a hacer desaparecer el clon celular patológico.

Todas las variables que hemos mencionado como determinantes para comenzar el tratamiento en el estadio A son susceptibles de ser incluidas en una clasificación pronóstica futura, si se confirma en estudios amplios y bien diseñados su relación con la supervivencia de los pacientes y la importancia de tenerlas en cuenta a la hora del tratamiento (FCGCLL 1990b).

D. Cómo tratar la LLC.

En la **Tabla 7** se resumen los principales procedimientos terapéuticos ensayados hasta el momento sobre pacientes de LLC, aunque no se haya llegado a conclusiones definitivas sobre el interés de muchos de ellos en el tratamiento de esta enfermedad. Los dos tratamientos clásicos en las leucemias son la radioterapia y la quimioterapia. Ambos han sido estudiados en pacientes de LLC, demostrándose, en ensayos clínicos aleatorizados, que la radioterapia -utilizada en múltiples formas que van desde la irradiación esplénica hasta la irradiación corporal total pasando por la radiación extracorporea de la sangre- no es superior a la quimioterapia (Jacobs y King 1987; Catovsky et al. 1988). En consecuencia, el tratamiento más generalmente aceptado en la clínica diaria es la quimioterapia.

Tabla 7. Procedimientos Terapéuticos utilizados en el Tratamiento de la LLC.

<p><u>QIMIOTERAPIA.</u></p> <ul style="list-style-type: none">- Monoquimioterapia:<ul style="list-style-type: none">Clorambucil.Glucocorticoides.Ciclofosfamida. - Poli quimioterapia:<ul style="list-style-type: none">Clorambucil y Prednisona.Ciclofosfamida y Citosina Arabinósido.Vincristina, Ciclofosfamida y Prednisona (COP).Vincristina, Ciclofosfamida, Prednisona y Adriamicina (CHOP).Vincristina, Ciclofosfamida, Prednisona y Melfalan (BCNU o Protocolo M-2).Vincristina, Ciclofosfamida, Prednisona, Melfalan y Peptiquimio (MiNa).
<hr/> <p><u>RADIOTERAPIA.</u></p> <ul style="list-style-type: none">- Paliativa.- Irradiación Tímica.- Irradiación Esplénica.- Irradiación Linfadenal Total.- Irradiación Sanguínea en Circulación Extracorpórea.- Irradiación Corporal Total.
<hr/> <p><u>TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA.</u></p>
<hr/> <p><u>MEDIDAS DE SOPORTE.</u></p> <ul style="list-style-type: none">- Esplenectomía.- Linfocitoaféresis.- Inmunoglobulinas Intravenosas en Altas Dosis.
<hr/> <p><u>MODIFICADORES DE LA RESPUESTA CELULAR.</u></p> <ul style="list-style-type: none">- Anticuerpos Monoclonales.- Interferón.- Pentostatin.

Rozman y Montserrat (1989), tras la revisión de 15 ensayos clínicos aleatorizados y con estratificación pronóstica, que empleaban la supervivencia como criterio de evaluación del tratamiento, reconocen que no existe en la actualidad ningún tratamiento quimioterápico que haya demostrado ser superior al clorambucil para los pacientes en el estadio B. Al clorambucil se le suele asociar la prednisona, aunque no se ha estudiado en profundidad si esta asociación presenta ventajas claras. Actualmente se está estudiando la administración de CHOP (COP + Adriamicina) frente al clorambucil y los primeros análisis parecen ser favorables al primero (FCGCLL 1988b).

Para los pacientes clasificados en el estadio C se han ensayado diferentes pautas quimioterápicas. El grupo cooperativo francés (FCGCLL 1986; 1989) ha demostrado que la poliquimioterapia denominada CHOP es mejor que el COP para aumentar la supervivencia, en el estadio C. Algunos autores señalan que el CHOP parece ser mejor que el clorambucil (Hansen et al. 1988) y este último mejor que el COP (Montserrat et al. 1985b).

Existen una serie de tratamientos paliativos o de soporte, como son la linfocitoaféresis, esplenectomía, y la administración intravenosa de inmunoglobulinas, que hacen disminuir algunos síntomas peligrosos y/o molestos como la linfocitosis superior a $100 \times 10^9/l$, las infecciones bacterianas graves y las adenomegalias (Rossi et al. 1986; Stein et al. 1987; Pegourie et al. 1987).

E. Otros Tratamientos en Fase Experimental.

Se han ensayado algunos otros tipos de quimioterapia diferentes a los mencionados, pero deberán ser más ampliamente ensayados antes de aplicarse en la clínica diaria (Case et al. 1985; Dillman et al. 1989). Entre ellos, cabe destacar la fludarabina (9-D-arabinofuranosil-2-fluoro-adenina monofosfato), que parece proporcionar porcentajes de remisión muy altos (Grever et al. 1988), pero facilita la presentación de infecciones (Keating et al. 1993).

La investigación de productos modificadores de la respuesta celular está comenzando en el momento actual. El uso de anticuerpos monoclonales, dirigidos específicamente contra las células leucémicas, se ha ensayado en pocos pacientes y sólo se han obtenido respuestas parciales y transitorias, estando gran parte de su farmacocinética aún por estudiar (Dillman et al. 1982). El estudio del Interferón en la LLC es todavía incompleto y no existen resultados definitivos.

El trasplante de médula ósea ha sido analizado recientemente en pacientes de LLC con prometedores resultados; se necesita tiempo aún para la confirmación de los mismos y el establecimiento del tipo de enfermo susceptible de someterse a dicho tratamiento, no exento de riesgos importantes en personas de edad avanzada.

F. Posibilidad de Curar la LLC.

A pesar de los buenos resultados obtenidos con el trasplante de médula ósea, esta terapia no puede ser aplicada a todos los pacientes. Existen dos prometedoras líneas de investigación que deberán ser exploradas en el futuro y que pudieran acabar fundiéndose en una única: las sustancias modificadoras del comportamiento de la célula y la micro-ecología celular. Bernard (1990) reutiliza el término de ecología para designar el medio donde viven y se reproducen las células sanguíneas así como las interacciones entre medio y célula. La ecología de las células sanguíneas cobra actualidad por tres observaciones clínicas realizadas en los enfermos de leucemia tratados mediante trasplante de médula y que exponemos a continuación: ¿Cual es la razón de que las células del donante inyectadas en el torrente sanguíneo se detengan sólo en la médula ósea? ¿Cómo interpretar las poco frecuentes recaídas de leucemia provocadas por la malignización de las células del donante? Y, en caso de recaída, ¿por qué las células sanas del donante se transforman en malignas?. La posible aplicación del concepto de ecología celular al tratamiento de la LLC esta aún por concretar.

Capítulo 3.

Descripción del Protocolo LLC-80. Material de
Trabajo.

I. DESCRIPCIÓN DEL PROTOCOLO DEL ENSAYO LLC-80.

El LLC-80 es un **ensayo clínico de fase III** que se activó el 27 de Mayo de 1980 por el Grupo Cooperativo Francés para el estudio de la Leucemia Linfocítica Crónica (FCGCLL 1983). El ensayo es **multicéntrico** y se desarrolla en 32 hospitales. Los datos que se utilizan en este trabajo están actualizados a la fecha de 1 de Junio de 1987 -fecha del segundo análisis intermedio programado-, y corresponden a los **969 pacientes** incluidos hasta ese momento (614 hombres, 349 mujeres y 6 cuyo sexo no se recogió) con edades comprendidas entre 29 y 90 años. A continuación se describe brevemente dicho protocolo.

A. Los Tratamientos Ensayados y el Diseño de Comparación.

El ensayo clínico LLC-80 tiene como objetivo principal la comparación de dos tratamientos en cada uno de los tres estadios -A, B, C- de la clasificación de Binet et al. (1981). En el estadio A se compara la abstención terapéutica frente al clorambucil. En el estadio B se ensaya el clorambucil frente al COP. En el estadio C se estudia el COP frente al CHOP. En la **Tabla 8** se expone la posología de los tratamientos.

Tabla 8. Posología de los Diferentes Tratamientos.

1. **Clorambucil** a dosis de 0'1 mg/Kg de peso del paciente de forma indefinida y por vía oral.
2. **COP:** Curas de cinco días de duración. Una cura por mes durante los seis primeros, y después una cada trimestre.
 - **Ciclofosfamida:** 300 mg/m² los días primero al quinto por vía oral.
 - **Vincristina** (oncovin): 1 mg/m² el primer día.
 - **Prednisona:** 40 mg/m² los días primero al quinto por vía oral.
3. **CHOP:** Se aplica la misma posología que el COP pero añadiendo **Adriamicina** 25 mg/m² el primer día de cada una de las curas.

Cada paciente es clasificado en uno de los estadios pronóstico y posteriormente se le asigna uno de los dos tratamientos de forma aleatoria. Los pacientes de más de 80 años en estadio C son aleatorizados como los pacientes del estadio B, es decir, entre COP y Clorambucil, debido a la toxicidad cardíaca de la adriamicina. En la **Tabla 9** se presenta el número de pacientes asignados a cada grupo de tratamiento, clasificados según su edad y estadio pronóstico.

Tabla 9. Pacientes Incluidos según Tratamiento, Edad y Estadio Pronóstico.

Tratamiento	Edad < 80 años			Edad ≥ 80 años			TOTAL
	Estadio Pronóstico.						
	A	B	C	A	B	C	
Abstención.	302			7			309
Clorambucil	292	146		10	2	1	451
COP		135	33		4	1	173
CHOP			36				36
TOTAL	594	281	69	17	6	2	969

A lo largo del tiempo se pueden producir los siguientes reajustes en la terapia administrada:

1. La **dosis se reduce a la mitad** si los polinucleares están entre 1000 y 1500 por mm^3 y/o las plaquetas están en cifras entre 50 y 100×10^9 / litro.
2. El **tratamiento se detiene** cuando los polinucleares están por debajo de 1000 por mm^3 y/o las plaquetas son inferiores a 50×10^9 / litro, hasta que las dos variables tomen valores que permitan la quimioterapia.
3. Se **detiene la administración de vincristina** si sobrevienen trastornos neurológicos.

La aceptación del protocolo implica seguir el tratamiento asignado inicialmente al paciente -Abstención, Clorambucil, COP o CHOP- y recoger información sobre las causas y el momento en que se realiza algún **cambio cualitativo** de tratamiento: pasar de no estar tratado a recibir quimioterapia, de tomar clorambucil inicialmente a serle administrado COP, CHOP, o cualquier otro tratamiento. El protocolo permite realizar algunos cambios de este tipo, cuando hayan transcurrido más de 9 meses desde la asignación aleatoria y se produzca un **cambio del paciente hacia estadios de peor pronóstico**.

B. Criterios de Inclusión y No inclusión.

Los individuos se reclutan en los 32 centros participantes, siendo susceptibles de inclusión en el ensayo -previo acuerdo escrito del paciente- si se cumplen los criterios de diagnóstico citológico clásico de la LLC:

1. **Linfocitosis** mayor de 15×10^9 linfocitos por litro, o valores superiores a 4 e inferiores a 15×10^9 linfocitos / l mantenidos durante los últimos 3 meses.
2. **Infiltración medular linfocitaria** puesta de manifiesto mediante punción o biopsia de la médula ósea. Para los pacientes con cifras de linfocitos comprendidas entre 4 y 15×10^9 células / l la biopsia de la médula ósea es obligatoria, debiendo mostrar alguno de los patrones de infiltración característicos (Raphael et al. 1983).

No se incluyen en el ensayo los pacientes en los que se aprecie alguna de las siguientes circunstancias:

1. **Tratamientos previos** para su LLC.
2. Cualquier **impedimento para mantener el seguimiento** clínico periódico.
3. **Padecer o haber padecido algún cáncer asociado**, con la excepción del cáncer cutáneo.
4. **Padecer una Leucemia Prolinfocítica** (Galton et al. 1974).
5. Pacientes en los estadios B o C para los que exista una **contraindicación de la terapia con corticoides**.
6. Pacientes en estadio C que presenten **contraindicación para la administración de Adriamicina**.

Cuando un paciente es incluido en el ensayo se le asigna un número de identificación (**OBSE**), al que se referirá toda la información recogida sobre él. La exclusión no está permitida.

C. Aleatorización.

La aleatorización o asignación del tratamiento al azar se realiza una vez que se dispone de toda la información del balance inicial sistemático (ver **Tabla 10**), que permite **verificar si el paciente cumple los criterios de inclusión y no-inclusión** en el ensayo clínico y su clasificación en uno de los estadios pronóstico de Binet et al. (1981).

La asignación se realiza de manera **estratificada** por centro; con ello se pretende que cada centro en el estudio pueda disponer de un número de pacientes similar en cada uno de los dos grupos de tratamiento correspondientes a cada estadio. Dicha asignación la realiza el secretariado del estudio LLC-80, que posteriormente comunica el tratamiento a poner en marcha, primero por vía telefónica y a continuación por correo. **El tratamiento se inicia de manera inmediata.**

La **fecha de asignación del tratamiento** o aleatorización tiene gran importancia en este estudio, ya que dicha fecha será el **origen de la escala temporal de seguimiento.**

D. Recogida de Datos: Balance Inicial y de Evolución.

El **balance inicial** o de entrada al ensayo se realiza antes de la asignación aleatoria de tratamiento. En dicho balance se recoge el sexo y la edad de los pacientes, además del resultado del informe sistemático obligatorio y del informe facultativo, que incluyen las variables expuestas en la **Tabla 10**.

El **balance de evolución o seguimiento** recoge las mismas variables que el examen sistemático, añadiendo información sobre la fecha de muerte, la pérdida de seguimiento, los cambios de estadio pronóstico, y los cambios de tratamiento -previstos en el protocolo-, en el caso de que tales acontecimientos se hubieran producido. Los balances realizados sobre cada paciente se numeran (**NROBIL**) de forma que el balance inicial es el número 1, designando a los de seguimiento con números naturales **k** consecutivos comenzando en el dos.

Tabla 10. Variables Medidas en el Balance Inicial.

Informe Sistemático:

- a. Examen Clínico:
 1. Antecedentes personales y familiares.
 2. Peso y Talla.
 3. Exploración de posibles adenopatías, hepatomegalia y esplenomegalia.
 4. Exploración de las amígdalas.
 5. Investigación de una posible afectación cutánea o infección.
 6. Estado general y actividad funcional evaluada a través de la escala de Karnofsky.
- b. Exámenes Complementarios:
 1. Hemograma completo que incluye recuento plaquetario.
 2. Mielograma.
 3. Biopsia medular (indispensable si el mielograma resulta pobre o poco infiltrado; optativo en el resto de los casos). Para informar sobre el patrón de infiltración se utiliza la clasificación de Raphael et al. (1983).
 4. Radiografías de tórax: anteroposterior y lateral.
 5. Linfografía según la clasificación de Grellet et al. (1979).
 6. Velocidad de sedimentación.
 7. Hierro sérico.
 8. Electroforesis y a veces inmunoelectroforesis de proteínas séricas.
 9. Dosificación de las inmunoglobulinas séricas.
 10. Test de Coombs.

Informe Facultativo:

1. Grupo sanguíneo.
 2. Tipaje del HLA (A,B,C,D).
 3. Estudio de linfocitos según las posibilidades o interés de cada centro.
-
-

E. La Escala Temporal y los Balances de Seguimiento.

El diseño del ensayo LLC-80 establece a priori la fecha de comienzo -27 de mayo de 1980- y el tiempo que debe durar el experimento -8'29 años- para obtener en la comparación la potencia deseada. También fija las fechas para la realización de tres análisis intermedios con los datos de seguimiento actualizados. A la fecha de actualización, el paciente puede encontrarse vivo, muerto, o perdido de vista. Si el paciente ha muerto, se investiga la fecha en que se ha producido su fallecimiento. Para los perdidos de vista, se indaga a través de diferentes fuentes cuál es la última fecha en la que se conocía con certeza que estaba vivo. La categoría "perdido de vista" engloba tanto los abandonos como las pérdidas de seguimiento. Debido a que el **reclutamiento** de los pacientes se realiza de **forma escalonada** a lo largo de la duración del experimento, el tiempo de seguimiento y consecuentemente el número total de balances son variables para cada individuo (Chastang et al. 1986). Dichas variables dependen además de otros factores, como la duración de la vida del paciente y el abandono o pérdida del seguimiento (**Figura 1**).

Para poder establecer una misma **pauta de seguimiento** aplicable a todos los pacientes incluidos en el ensayo, es necesario fijar una escala temporal con origen común t_0 . Se ha escrito mucho sobre cuál es el suceso que permite una definición más homogénea del instante t_0 , habiéndose propuesto entre otros el "diagnóstico", "primera visita al médico", etc... Sin embargo, el hecho que permite conseguir un origen de la escala temporal uniforme para todos los pacientes incluidos en un ensayo clínico es el momento

de la asignación aleatoria del tratamiento -aleatorización-; éste es el origen de la escala temporal de seguimiento que utiliza el ensayo LLC-80. La representación de la inclusión de los pacientes en el ensayo, con la **escala del tiempo de seguimiento**, produce la falsa sensación de que todos los pacientes han sido incluidos en el mismo instante t_0 de la asignación aleatoria (**Figura 2**). En este trabajo, **el tiempo que cada paciente permanece en el estudio** es una variable (**TIMSEG**) que se define calculando los días transcurridos desde la aleatorización hasta la fecha del acontecimiento que suceda antes, entre los siguientes: actualización de los datos, pérdida del seguimiento o muerte del paciente.

Los balances de evolución en el ensayo LLC-80 han sido programados considerando la escala del tiempo de seguimiento. El primero de estos balances debía realizarse **a los nueve meses** de la aleatorización, y los **balances sucesivos cada seis meses**.

II. MATERIAL UTILIZADO EN ESTE TRABAJO.

Los datos utilizados en este trabajo se han empleado y analizado en otros estudios publicados por el grupo cooperativo francés (FCGCLL 1986, 1988a, 1988b, 1989, 1990a, 1990b; Chevret 1989).

A. Pacientes y Balances.

La base de datos del ensayo LLC-80 contiene información sobre **969 pacientes de LLC** incluidos en el estudio hasta el 1 de junio de 1987. La información se recoge en **un total de 5.357 registros, cada uno de los cuales se corresponde con un balance**, siendo 969 iniciales y el resto de seguimiento.

No se incluirá en nuestro estudio **al único paciente** de más de 80 años de edad que encontrándose en estadio C había sido tratado con clorambucil. Sobre este paciente se han realizado sólo dos balances.

En el estudio de seguimiento utilizaremos **todos los balances realizados sobre los pacientes mientras siguieron el tratamiento inicial, aleatoriamente asignado**; no utilizaremos los balances realizados a partir del momento en que se cambió dicho tratamiento. Según el protocolo, el cambio de tratamiento implicaba un cambio de estadio pronóstico por parte del paciente.

B. Variables del Balance Inicial.

De la información recogida en el balance inicial ($k=1$) tomaremos directamente las variables: **sexo**, **edad** -medida en años-, todas las variables necesarias para definir el **estadio pronóstico** del paciente (**STADEN**) y el **tratamiento asignado al azar** (**RAND**). El estadio pronóstico -A, B o C- se define con los criterios de la clasificación de Binet et al. (1981), a partir del valor de las variables:

- **Concentración de hemoglobina (HB)** en la sangre periférica medida en gramos / litro.
- **Número de plaquetas (PLAQ)**, medida en unidades de 10^9 plaquetas / litro.
- Indicadores de **afectación de las áreas ganglionares** cervical, axilar e inguinal.
- Indicador de la **afectación del bazo**, con esplenomegalia.
- Indicador de la **afectación del Hígado**, con hepatomegalia mayor o igual a 14 cm por debajo del reborde costal.

Además, tomaremos:

- El **número de leucocitos (GB)** y el **porcentaje de linfocitos (LYMP)**.

A partir de los indicadores de afectación ganglionar hepática y esplénica, construiremos la variable:

- **Número de áreas afectadas (NROAREAS)** contando como 1 la afectación de cualquiera de las áreas aunque sea bilateral. Esta variable puede tomar valores de cero a cinco y es la que se utiliza en la clasificación de Binet et al. (1981).

También construiremos las variables siguientes:

- El **número de linfocitos (NLYMP)**, obtenido a partir de **GB** y **LYMP** mediante la fórmula: $\text{NLYMP} = \text{GB} \times (\text{LYMP} / 100)$. **NLYMP** tendrá unidades de 10^9 linfocitos / litro.
- El **logaritmo neperiano del número de linfocitos (LOGNLYMP)**. Esta variable facilita la realización de los análisis, al favorecer la linealidad y homocedasticidad de la varianza (Armitage 1992). Además, permite la comparación de nuestros resultados con los de otros estudios previos sobre la evolución del logaritmo del número de linfocitos (Galton et al. 1966; Bernardou et al. 1973).

C. Variables de los Balances de Seguimiento.

En el estudio de la evolución resulta esencial la localización de las observaciones o balances sobre la escala del tiempo de seguimiento. Para ello necesitamos las siguientes variables, que tomamos directamente de la base de datos:

- **Identificación** numérica única **de cada paciente (OBSE)**, que indicaremos por i .
- **Número del balance (NROBIL)**, que indicaremos por k .
- **Fecha de aleatorización (DATRAN)**
- **Fecha en la que se realiza el balance de seguimiento k (DATBIL _{k})**.

Entonces,

- Los **días transcurridos** (T_k) desde la fecha de aleatorización hasta la fecha en que se realiza el balance de seguimiento k se calculan mediante la expresión: $T_k = \text{DATBIL}_k - \text{DATRAN}$.

De cada balance de seguimiento $k \geq 2$, se toman directamente de la base de datos las siguientes variables medidas en sangre periférica:

- El número de leucocitos (GB_k).
- El porcentaje de linfocitos en la fórmula leucocitaria (LYMP_k).
- La concentración de hemoglobina (HB_k).
- El número de plaquetas (PLAQ_k).

El **número de linfocitos en sangre** periférica (NLYMP_k) se calcula como se ha visto anteriormente, pudiendo a continuación obtener su **transformación logarítmica** (LOGNLYMP_k).

Para considerar la inclusión de un balance de seguimiento en el análisis de evolución, necesitamos dos variables de la base de datos del ensayo LLC-80:

- El **tratamiento prescrito** al paciente en cada balance (TTSUIV_k).
- El **tratamiento recibido** por el paciente (TTRECU_k) desde el balance de seguimiento anterior ($k-1$).

Incluiremos en el análisis de evolución todos los balances de seguimiento k previos a la detección de un cambio de tratamiento, es decir, cuando se verifica que $\text{TTRECU}_h = \text{TTSUIV}_{(h-1)} = \text{RAND}$ para todo $h \leq k$.

Capítulo 4.

Métodos de Análisis.

El estudio de la evolución puede basarse en distintos diseños experimentales generadores de datos. El análisis debe adecuarse tanto al diseño del experimento como a las características de los datos generados. Los métodos de análisis estadístico aplicables al estudio de la evolución han experimentado cambios fundamentales, pero, en realidad, los métodos actuales pueden considerarse generalizaciones de los métodos clásicos. En este capítulo describimos brevemente los diferentes diseños y algunos de estos métodos, enfatizando los que posteriormente utilizaremos en el análisis de la evolución de las variables de interés.

En este trabajo, las unidades experimentales son **individuos -pacientes-**. Los términos de **variable y característica** se utilizarán indistintamente, pero se diferencian las variables **respuesta**, cuya evolución nos interesa estudiar, de las **covariables** o variables **explicativas** que pueden afectar a la variable respuesta. A las covariables categóricas las denominaremos **factores**, reservando el término de **efecto** para referirnos a la influencia de las variables explicativas sobre la variable respuesta. Distinguiremos las **covariables que son constantes en el tiempo** para cada individuo de las **covariables tiempo dependientes**. La variación de las primeras es exclusivamente interindividual -covariables **interindividuales-**; ejemplos clásicos son el sexo, lugar de nacimiento y los antecedentes de enfermedades. Las covariables tiempo dependientes se denominan también **intraindividuales**, al tomar valores diferentes en las distintas observaciones de un mismo individuo a lo largo del tiempo.

I. DISEÑOS PARA EL ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN.

El estudio de la evolución de una cierta variable respuesta Y , en una determinada población de individuos, puede basarse en dos tipos fundamentales de diseño. El diseño denominado **transversal** -cross sectional- por Goldstein (1979) y **transversal repetido** -repeated cross sectional- por Ware (1985) consiste en escoger q muestras independientes de individuos, cada una de ellas en determinado instante t_k de la escala temporal ($k=1, \dots, q$) (Tabla 11).

Tabla 11. Estructura de la Matriz de Datos en el Diseño Transversal.

INSTANTE TEMPORAL	t_1	t_2	t_k	t_q
MUESTRA.	m_1	m_2	m_k	m_q
TAMAÑO	n_1	n_2	n_k	n_q
	Y_{1,m_1}	Y_{1,m_2}	.	Y_{1,m_k}	.	Y_{1,m_q}
	\vdots	\vdots	.	\vdots	.	\vdots
	Y_{i,m_1}	Y_{i,m_2}	.	Y_{i,m_k}	.	Y_{i,m_q}
	\vdots	\vdots	.	\vdots	.	\vdots
	Y_{n_1,m_1}	Y_{n_2,m_2}	.	Y_{n_k,m_k}	.	Y_{n_q,m_q}
MEDIAS MUESTRALES	\bar{Y}_{m_1}	\bar{Y}_{m_2}	\bar{Y}_{m_k}	\bar{Y}_{m_q}

Este diseño puede utilizarse para detectar cambios en la variable respuesta Y relacionados con el tiempo, basándose en la comparación de las medias de la variable respuesta Y en las diferentes muestras de pacientes. Cada muestra incluye individuos distintos; por tanto, el diseño transversal no recoge información sobre las trayectorias individuales del proceso. Glindmeyer et al. (1982) desaconsejan realizar predicciones individuales de evolución de la enfermedad fundamentadas exclusivamente en resultados de estudios transversales.

El diseño **longitudinal** se caracteriza por realizar observaciones repetidas -balances de seguimiento- en cada unidad experimental, en diferentes instantes temporales, facilitando información sobre las trayectorias del proceso y la variación intraindividual. Además, permite **controlar de manera uniforme, y similar en todos los pacientes, la exposición a diversos factores susceptibles de afectar a la variable respuesta**. Dicho control resulta más difícil y menos fiable en los estudios transversales, debido a que en cada instante de tiempo se seleccionan individuos diferentes.

A. Tipos de Diseños Longitudinales.

El diseño que fija a priori una pauta de seguimiento idéntica para todas las unidades experimentales se denomina "**longitudinal puro**", "**longitudinal fijo**" o "**longitudinal de medidas repetidas**" (Goldstein 1979). Este diseño plantea la realización de un mismo número de observaciones **-q-** sobre cada unidad experimental, efectuadas en idéntico conjunto t_1, t_2, \dots, t_q de instantes temporales (**Tabla 12**).

Tabla 12. Estructura de Datos del Diseño Longitudinal Fijo.

INSTANTE TEMPORAL						
	t_1	t_2	t_k	t_q
INDIVIDUO						
1	$Y_{1,1}$	$Y_{1,2}$	· · ·	$Y_{1,k}$	· · ·	$Y_{1,q}$
·	·	·	· · ·	·	· · ·	·
i	$Y_{i,1}$	$Y_{i,2}$	· · ·	$Y_{i,k}$	· · ·	$Y_{i,q}$
·	·	·	· · ·	·	· · ·	·
n	$Y_{n,1}$	$Y_{n,2}$	· · ·	$Y_{n,k}$	· · ·	$Y_{n,q}$
MEDIA	\bar{Y}_1	\bar{Y}_2	\bar{Y}_k	\bar{Y}_q

No existe una calificación generalmente aceptada para otro tipo de diseños longitudinales. Goldstein (1979) sugiere la denominación de estudios "**longitudinales mixtos**" para aquellos en los cuales existen individuos que han sido observados en subconjuntos -diferentes- de ocasiones pertenecientes al conjunto de instantes t_1, t_2, \dots, t_q prefijados en el diseño. Aquí, extenderemos esta denominación para incluir también los estudios longitudinales diseñados para realizar las observaciones sobre los individuos en determinados instantes de la escala temporal, pero que por su diseño - v.g. duración fija del ensayo y reclutamiento escalonado en el tiempo- no contemplan el mismo número de

observaciones sobre cada individuo; admitiremos además que las observaciones puedan realizarse en diferentes instantes de los considerados en la pauta de seguimiento. La estructura de datos del estudio longitudinal mixto es de difícil representación, ya que el número de observaciones q_i , y los instantes en que se efectúan, dependen del individuo i .

La principal diferencia entre ambos tipos de diseño longitudinal está en la variabilidad interindividual del tiempo. Si el diseño longitudinal es fijo, no existe variabilidad interindividual ya que todos los individuos han sido observados en los mismos instantes t_1, t_2, \dots, t_q ; sin embargo, si el diseño es mixto, tanto el tiempo en que se realizan las observaciones como el número de éstas varía interindividualmente ($t_{i1}, t_{i2}, \dots, t_{iq}$).

B. Características de los Datos: Importancia del Análisis Preliminar.

Los datos recogidos por un estudio longitudinal pueden presentar ciertas características de gran importancia a la hora de seleccionar los métodos de análisis, tales como **datos faltantes, desbalances y dependencia entre las observaciones de la variable respuesta realizadas sobre un mismo individuo.**

Se denominan **datos faltantes** a aquellos que no se recogieron, a pesar de que el balance de seguimiento u observación correspondiente pudo haberse realizado en su momento. Cuando no existen datos faltantes se dice que los **datos son completos**. Se han descrito diferentes métodos para soslayar las

dificultades que plantean los datos faltantes en el análisis, basados, en general, en la hipótesis de independencia entre el mecanismo de generación de dichos datos y la variable respuesta -"missing at random"-; en los últimos años ha ganado fuerza la imputación de los datos faltantes a partir de los datos de otros individuos (Little y Rubin 1987). La cantidad de datos faltantes afecta la calidad del estudio en relación inversamente proporcional.

En el contexto de los estudios longitudinales, se habla en general de **datos o diseños balanceados** cuando todos los individuos del estudio son observados en los mismos instantes t_1, t_2, \dots, t_q -diseño longitudinal fijo- y no hay datos faltantes. Este tipo de datos se encuentran en investigaciones realizadas en laboratorio, con seguimientos cortos y completos de unidades experimentales privadas de voluntad propia, en los que no es probable que se produzcan muertes ni, por supuesto, abandonos del seguimiento. Cuando se plantean **seguimientos largos de pacientes**, lo más habitual es que existan datos faltantes y **se produzcan desbalances**, al observar a cada paciente en un conjunto diferente de ocasiones.

Los **métodos clásicos de análisis** resultan aplicables cuando podemos admitir la independencia de las respuestas Y condicionadas a los valores de las variables explicativas. Dicha independencia es admisible en el caso de que la respuesta haya sido medida en individuos diferentes; sin embargo, los datos longitudinales se caracterizan por **la medida de la variable respuesta sobre los mismos individuos en varias ocasiones a lo largo del tiempo, lo que no permite sostener la hipótesis general de independencia**. Para un mismo

individuo, las respuestas pueden ser dependientes, por lo que se necesitan métodos de análisis que permitan tomar dicha dependencia en consideración.

La necesidad de escoger métodos adecuados a las características de los datos exige la realización de un **análisis preliminar** -descriptivo- de su estructura real.

El diseño del ensayo LLC-80 fija una pauta de seguimiento igual para todos los pacientes, pero la inclusión escalonada provoca que los individuos sean observados en un número diferente de ocasiones. En consecuencia, **el total de las observaciones realizadas sobre cada paciente i es un valor q_i , dependiente del individuo**. Además, en la práctica, resulta imposible respetar estrictamente la pauta de seguimiento, **realizándose los balances de evolución en diferentes instantes de la escala temporal**. En realidad se ha observado a cada individuo i en instantes temporales $t_{i1}, t_{i2}, \dots, t_{iq_i}$, que dependen del individuo considerado. **La hipótesis de que cada balance k se ha realizado en el mismo instante t_k para todos los individuos ($t_{ik} = t_k$, para todo i) -o en un instante próximo-, puede conducir a errores importantes**. Por poner un ejemplo muy extremo, el balance número 2 se realizó en un paciente a los 21 días de la aleatorización, y en otro a los 2.075 días; considerar que ambos balances se han efectuado a los 9 meses (aproximadamente 270 días) del origen de la escala de seguimiento como especificaba el protocolo, o incluso cerca el uno del otro, equivale a suponer que el tiempo de exposición a la enfermedad, el tratamiento, u otros factores, es igual en ambos pacientes cuando se realiza el segundo balance.

Los instantes en que se realizan los balances (t_{ik}) se determinan con respecto al instante de la aleatorización del individuo i calculando los días transcurridos hasta la fecha consignada en el balance de seguimiento k ($k= 2, \dots, q_i$). La fecha de aleatorización es fiable al ser recogida por el propio secretariado del estudio. Sin embargo, es posible que se hayan deslizado errores en la cumplimentación de las fechas del balance que debía incluir el día, el mes y el año. De hecho, se descubrió que **en 80 balances faltaba el día de la fecha, que se imputó de forma determinista al día 15**. Para intentar descubrir otros posibles errores, se comparó el orden de los balances de cada paciente, basado en los valores t_{ik} , con la numeración correlativa que de los mismos hacía el secretariado del estudio (k). Esta comparación no detectó errores importantes. **Los valores t_{ik} pueden ser muy elevados, por lo que en el análisis de evolución se cambia su unidad de medida a meses de 30 días. El t_{i1} correspondiente al balance inicial se fija en 0**, lo que supone que en la representación de estas variables sobre la escala del tiempo de seguimiento **asumimos que dicho balance inicial se efectúa en el instante de la aleatorización**, aunque en realidad se ha producido antes de la misma. Estas variables se describen con detalle en el Capítulo 5.

La calidad de los datos del estudio LLC-80 se pone de manifiesto cuando observamos el **escaso número de datos faltantes** correspondientes a las variables utilizadas en este trabajo, independientemente de si se trata de balances iniciales o de seguimiento.

II. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE ESTUDIOS LONGITUDINALES.

El caso más simple de diseño balanceado con datos completos es la investigación del cambio en la variable respuesta Y , una vez transcurrido cierto período de tiempo. En cada individuo disponemos del valor de la variable (Y_1, Y_2), correspondiente a dos observaciones realizadas en los instantes t_1 y t_2 fijados por diseño. Por lo tanto, podemos estudiar el efecto del tiempo ($Y_1 - Y_2$) utilizando métodos de inferencia para datos apareados.

Cuando sobre cada individuo tenemos q observaciones de la variable respuesta (Y_1, Y_2, \dots, Y_q), en los instantes t_1, t_2, \dots, t_q , podríamos estudiar el efecto del tiempo entre cada par de instantes temporales planteando $q(q-1) / 2$ diferentes tests de hipótesis no independientes. Este planteamiento del análisis es discutido, aún cuando se utilicen procedimientos de comparación múltiple destinados a disminuir la probabilidad de rechazar erróneamente alguna de las hipótesis planteadas (Einot I. y Gabriel K.R. 1975; Gabriel 1978). En esta situación, el método más utilizado es el análisis multivariante de varianza, ya que, bajo ciertas suposiciones, permite el planteamiento de test de hipótesis para contrastar la igualdad de las medias de la variable respuesta en las q ocasiones. Sin embargo, no facilita el análisis de datos no-balanceados, ni distingue el carácter continuo del tiempo (Bryandt y Gillings, 1985).

En el estudio de la evolución de una variable respuesta Y interesa la relación de dicha variable con el tiempo T , y se puede plantear que:

$$Y = g(T, X_1, X_2, \dots, X_m, Z_1(t), Z_2(t), \dots, Z_r(t), \beta_0, \beta_1, \dots, \beta_u) + \varepsilon$$

donde X_1, X_2, \dots, X_m y $Z_1(t), Z_2(t), \dots, Z_r(t)$ son covariables fijas y tiempo dependientes respectivamente, y $\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_u$ representan un conjunto de $u+1$ parámetros desconocidos que relacionan las covariables y el tiempo con la variable respuesta; ε es una variable de media cero y dispersión no especificada todavía. A la función $g(\cdot)$ se le denomina en general **regresión**, y se considera que **las estimaciones de los parámetros** -o funciones de los mismos- **son medidas del efecto correspondiente sobre la respuesta**. En general suele suponerse una forma determinada para $g(\cdot)$, lineal o no lineal; cuando no se considera un modelo (paramétrico) predeterminado, se habla de regresión no paramétrica (Müller 1988). La regresión es un planteamiento flexible que puede utilizarse en el análisis de diferentes diseños.

La regresión no paramétrica permite el análisis de datos longitudinales balanceados o no-balanceados, pero necesita un número de observaciones elevado y frecuente (Goldstein 1986a). Precisa, además, una capacidad de cálculo muy considerable.

La suposición de un modelo paramétrico no exige un número de observaciones tan elevado y frecuente como la regresión no paramétrica. Sin embargo, las trayectorias de la respuesta pueden ser en realidad muy complicadas y precisar un modelo con un número de parámetros elevado. Dicho modelo puede ser difícil de ajustar, sobre todo si disponemos de un número de observaciones reducido. Los datos del ensayo LLC-80 recogen un

máximo de 13 observaciones realizadas sobre un mismo paciente a lo largo de varios años, por lo que trataremos de buscar un modelo paramétrico que, con un número reducido de parámetros, produzca un ajuste razonable a los datos.

El empleo de modelos de regresión en el análisis de diseños longitudinales se denomina análisis de curvas de crecimiento, a partir de los trabajos de Wishart (1938) y Rao (1965,1975) para datos balanceados. **El análisis de datos no balanceados entraña importantes dificultades teóricas y de cálculo**, y constituye un área de creciente investigación e interés.

La bibliografía sobre la aplicación de diferentes modelos paramétricos no lineales al estudio del crecimiento de un único sujeto es abundante (Goldstein 1979); sin embargo, cuando lo que se pretende es estudiar una población de individuos, los métodos descritos se circunscriben prácticamente a la regresión lineal (Laird y Ware 1982; Jennrich y Schluchter 1986; Diggle 1988; Muñoz et al. 1992), encontrándose pocas excepciones (Berkey y Laird 1986).

A. Métodos para Datos Balanceados y Completos.

Existen dos aproximaciones clásicas para el análisis de diseños balanceados: el análisis de varianza y el análisis de curvas de crecimiento.

1. El Análisis de Varianza.

El **análisis de varianza** es quizás el método paramétrico más utilizado para analizar datos longitudinales balanceados y completos. En su aplicación se pueden distinguir dos modelos diferentes: el denominado **modelo mixto de análisis de varianza** (ANOVA) y el **análisis de varianza multivariante** (MANOVA).

El modelo mixto ANOVA puede considerarse un caso particular de regresión, con todas las variables explicativas categóricas. En ese contexto, las covariables son factores que identifican las clases a las que pertenecen los individuos. Un factor se denomina **aleatorio** cuando sus clases corresponden a un subconjunto seleccionado aleatoriamente entre los elementos de otro conjunto más amplio. Un factor es **fijo** si sus clases son las únicas consideradas de interés. En general, los individuos se consideran clases de un factor aleatorio debido a que habitualmente se seleccionan a partir de una población potencial de sujetos. Otras características como el tratamiento pueden considerarse factores fijos o aleatorios, dependiendo de si el diseño considera únicamente determinados tratamientos de interés, o si los tratamientos se escogen de forma aleatoria entre el conjunto de tratamientos posibles.

El ANOVA mixto considera una única variable respuesta a explicar Y , tratando el tiempo como un factor explicativo con q clases. Además, otras características como el tratamiento y la ocasión en que se realizan las observaciones son factores fijos cruzados, mientras que los sujetos son

tratados como factores aleatorios anidados ("nested" en la bibliografía anglosajona) dentro de los grupos de tratamiento (Goldstein 1986; 1986a). Si denominamos Y_{ijk} a la respuesta en la ocasión k , del individuo i -incluido en el grupo de tratamiento j - ($i=1,\dots,n$; $j=1,\dots,r$; $k=1,\dots,q$), el modelo ANOVA mixto puede escribirse:

$$Y_{ijk} = \beta_0 + \beta_j + \beta_k + \beta_{i(j)} + \beta_{jk} + \beta_{i(j)k} + e_{ijk} \quad ,$$

con la condición de que:

$$\sum_j \beta_j = \sum_k \beta_k = \sum_j \beta_{jk} = \sum_k \beta_{jk} = \sum_k \beta_{i(j)k} = 0 \quad ,$$

donde β_0 , β_j , β_k , representan la media en la población general, el efecto del tratamiento j , y el efecto de la ocasión k , respectivamente; $\beta_{i(j)}$ es el efecto -aleatorio- correspondiente al individuo i -en el grupo de tratamiento j - y β_{jk} , $\beta_{i(j)k}$ representan respectivamente la interacción del tratamiento j y del individuo i (con tratamiento j) con la ocasión k . El error aleatorio e_{ijk} y los efectos indexados por i pueden refundirse en una variable e_{ijk} :

$$e_{ijk} = \beta_{i(j)} + \beta_{i(j)k} + e_{ijk} \quad .$$

La suposición habitual de este modelo es que, para todo j , $i(j)$, las variables e_{ijk} tienen una distribución normal multivariante (NMV_q) con vector de medias cero y estructura o matriz de covarianza Σ de dimensiones qxq :

$$\sum_{q \times q} \sim \sigma^2 \begin{bmatrix} 1 & \rho & \dots & \rho \\ \rho & 1 & \dots & \rho \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \rho & \rho & \dots & 1 \end{bmatrix}, \quad (1)$$

Esto significa que Σ es idéntica para los diferentes individuos, cualquiera que sea el grupo de tratamiento, e implica homogeneidad de la varianza (σ^2) en dichos grupos y en cada ocasión. El parámetro ρ es la correlación de la variable respuesta medida en dos ocasiones diferentes. Esta estructura de la varianza no resulta ser muy real, debido a que supone correlaciones idénticas e independientes del intervalo de tiempo transcurrido entre las observaciones, cuando lo habitual es que la correlación sea tanto mayor cuanto menor es el intervalo de tiempo transcurrido. Además, supone homogeneidad de la varianza en el tiempo, lo que puede ser poco apropiado si los seguimientos son largos.

Una extensión del análisis lineal univariante que ha sido empleada para datos balanceados y completos es el denominado **análisis de perfiles o análisis de varianza multivariante** (MANOVA), que se escribe en notación matricial: $\mathbf{Y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \boldsymbol{\varepsilon}$, donde \mathbf{Y} es una matriz de dimensiones $n \times q$ que contiene las q observaciones de la variable respuesta en los n individuos de la muestra, \mathbf{X} es la matriz de diseño de dimensiones $n \times m$ que contiene información sobre los factores que pueden afectar a la variable respuesta, y $\boldsymbol{\beta}$ es una matriz ($m \times q$) de parámetros que corresponden al efecto de los factores sobre las respuestas; $\boldsymbol{\varepsilon}$ es una matriz aleatoria de dimensiones $n \times q$. Este

modelo supone una distribución independiente y normal multivariante de vector de medias $\mathbf{0}$ y covarianza Σ para cada fila de $\boldsymbol{\varepsilon}$.

Los tests MANOVA toman en cuenta la distribución conjunta de las q variables dependientes a explicar que forman las columnas de \mathbf{Y} . Las hipótesis de interés consideran que los efectos de ciertas filas en la matriz $\boldsymbol{\beta}$ son iguales. Para efectuar estos test se construyen dos matrices \mathbf{H} y \mathbf{E} , correspondientes al numerador y denominador de un test de la F (SAS/STAT User's Guide 1989). A partir de estas matrices se pueden calcular diferentes estadísticos, uno de los más conocidos es el denominado Lambda de Wilks -determinante(\mathbf{E}) / determinante ($\mathbf{E}+\mathbf{H}$)-. Este estadístico sigue una distribución que se aproxima a la F de Snedecor; cuando sólo nos interesa contrastar la diferencia entre dos efectos, el estadístico sigue una distribución F exacta (Rao 1973). Tablas para los valores críticos de este test se pueden encontrar en Pillai (1960), y una comparación con otros estadísticos en Seber (1984).

En general, los métodos de análisis de varianza son robustos, es decir, se pueden aplicar si no existen graves violaciones de las suposiciones en las que se basa el modelo. Una ventaja del análisis de perfiles (MANOVA) sobre el ANOVA es que los test que emplea para contrastar los efectos intraindividuales (v.g. el tiempo) son más robustos cuando falta la homogeneidad de la varianza en los diferentes grupos identificados en la matriz de diseño (La Tour y Miniard 1983). **Ambos consideran sin embargo, el tiempo de forma discreta con q clases, y no distinguen el orden en que se efectúan las medidas.**

2. Análisis de Curvas de Crecimiento.

En 1938, Wishart fue el primero que al analizar datos longitudinales consideró el tiempo como una variable numérica continua: su método describe el ajuste de una curva polinómica a cada individuo en el estudio y es llamado en general **análisis de curvas de crecimiento**. Si denominamos **Y** al vector -de dimensión $q \times 1$ - de respuestas del individuo en los diferentes instantes de tiempo t_1, t_2, \dots, t_q , y suponemos que **Y** se ajusta a un modelo polinómico de grado h predeterminado, el modelo de Wishart se escribe:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{Z}\boldsymbol{\beta} + \boldsymbol{\varepsilon} \quad , \quad (2)$$

donde **Z** es una matriz de diseño de dimensiones $q \times (h+1)$, que tiene en columnas potencias del tiempo hasta el grado h :

$$\mathbf{Z} = \begin{bmatrix} t_1^0 & t_1^1 & \dots & t_1^h \\ t_2^0 & t_2^1 & \dots & t_2^h \\ \vdots & \vdots & \dots & \vdots \\ t_q^0 & t_q^1 & \dots & t_q^h \end{bmatrix} . \quad (3)$$

El vector **$\boldsymbol{\beta}$** , de dimensiones $(h+1) \times 1$, contiene los parámetros del modelo individual de crecimiento. El vector aleatorio **$\boldsymbol{\varepsilon}$** , de dimensiones $q \times 1$, se supone con una distribución normal q -dimensional (NMV_q), con vector de medias **$\mathbf{0}$** y matriz de covarianza **$\boldsymbol{\Sigma}$** .

Rao (1965,1975) considera un modelo polinomial como el anterior para la variable respuesta medida **en un grupo de n individuos**. Su modelo puede describirse en dos fases o niveles. En la primera fase el modelo supone que la respuesta se ajusta al mismo polinomio de grado $h \leq q-1$ en cada uno de los individuos, y se escribe:

$$Y_i = Z w_i + \varepsilon_i \quad \text{para } i = 1, \dots, n \quad (4)$$

donde **Z** es una matriz idéntica a (3) e igual para todos los individuos; la distribución del vector aleatorio ε_i condicionada a w_i se supone $NMV_q(\mathbf{0}, \Sigma)$ e independiente de i . En el segundo nivel, el modelo de Rao supone que w_i es un vector aleatorio independiente de ε_i , de dimensiones $(h+1) \times 1$, que varía interindividualmente y se distribuye de forma $NMV_{(h+1)}(\omega, \Lambda)$. Tanto Λ como Σ son dos matrices de parámetros característicos de la población o grupo considerado.

Grizzle y Allen (1969) generalizan el modelo de Rao **considerando m grupos diferentes de individuos** -v.g. grupos de tratamiento-. El modelo se escribe:

$$Y = Z \xi X + \varepsilon \quad , \quad (5)$$

donde **Y** es una matriz de respuestas con dimensiones $q \times n$; **Z** es la matriz de diseño intraindividual que consideramos en (3); ξ es ahora una matriz de parámetros de dimensiones $(h+1) \times m$; **X**, de dimensiones $m \times n$, es la matriz

de diseño interindividual que en el modelo original de Grizzle y Allen sólo incluía indicadores del grupo al que pertenece cada uno de los n individuos, pero que según comentan los mismos autores puede ser más general e incluir otro tipo de variables de interés. Cada una de las n columnas de la matriz ϵ sigue una distribución normal q -variante (NMV_q) con vector de medias $\mathbf{0}$ y matriz de covarianzas Σ idéntica en todos los individuos. Los autores de este modelo señalan en su artículo dos posibles extensiones: considerar el caso en que la respuesta de cada individuo se ajusta a un modelo no lineal en los parámetros, y permitir la **exploración de diferentes modelos para la covarianza Σ** .

Todos los modelos reseñados hasta el momento son válidos para el análisis de diseños balanceados y datos completos en los que es posible suponer igual estructura de correlación o covarianza Σ en todos y cada uno de los individuos incluidos en el estudio. Sin embargo, **cuando el diseño es no balanceado, o existen datos faltantes, la dimensión de Σ_i cambia entre individuos ($i = 1, 2, \dots, n$), por lo que son necesarios otros métodos que tomen en consideración estas características de los datos**. Kleinbaum (1973) describe un método para la estimación de Σ cuando existen algunos datos faltantes y ligeros desbalances en los datos recogidos por estudios longitudinales de diseño puro, pero cuando el desbalance es mayor, como sucede con los datos provenientes del ensayo LLC-80, son necesarios otros métodos que permitan la modelización y estimación de las diferentes Σ_i .

B. Método para Datos No-balanceados: El Modelo Jerárquico.

El modelo denominado **Jerárquico** (Ware 1985; Goldstein 1986, 1986a; Schluchter 1988), se caracteriza por **permitir el tratamiento de datos balanceados y no-balanceados**, siendo el resultado de la generalización del método de curvas de crecimiento, susceptible de ser utilizado en el **análisis de estudios longitudinales de diseño mixto**. El modelo Jerárquico puede ser descrito de diferentes formas, e incluye efectos fijos y aleatorios.

1. Descripción del Modelo.

Jennrich y Schluchter (1986) describen el modelo considerando que la variable respuesta en el individuo i es un vector \mathbf{Y}_i , de dimensiones $q_i \times 1$, que se ajusta al modelo lineal:

$$\mathbf{Y}_i = \mathbf{X}_i \boldsymbol{\beta} + \boldsymbol{\varepsilon}_i \quad , \quad (6)$$

donde \mathbf{X}_i es una matriz de diseño conocida $q_i \times (m + 1)$, que contiene las covariables X_1, X_2, \dots, X_m responsables de los efectos fijos recogidos en el vector $\boldsymbol{\beta}$, constituido por $m+1$ parámetros desconocidos. Se supone, además, que el vector aleatorio $\boldsymbol{\varepsilon}_i$ ($q_i \times 1$) se ajusta al modelo lineal:

$$\boldsymbol{\varepsilon}_i = \mathbf{Z}_i \mathbf{b}_i + \mathbf{f}_i \quad , \quad (7)$$

donde \mathbf{Z}_i es una matriz conocida $q_i \times (v + 1)$, que incluye v covariables tiempo dependientes, u otras funciones del tiempo en que se realizan las

observaciones sobre el individuo i ($Z_1(t), Z_2(t), \dots, Z_v(t)$). El vector de efectos aleatorios \mathbf{b}_i recoge el efecto intraindividual de las covariables tiempo dependientes sobre la variable respuesta, y tiene una distribución:

$$\mathbf{b}_i = NMV(\mathbf{0}, \Lambda) \quad , \quad (8)$$

donde Λ es una matriz simétrica, no dependiente de i , de dimensiones $(v + 1) \times (v + 1)$, \mathbf{f}_i es un vector aleatorio de dimensiones $q_i \times 1$, con distribución $NMV_{q_i}(\mathbf{0}, \mathbf{R}_i)$; la matriz de covarianzas \mathbf{R}_i tiene dimensiones $q_i \times q_i$ **que varían de un sujeto a otro, si el diseño o los datos no son balanceados. El modelo jerárquico supone independencia entre los vectores \mathbf{b}_i y \mathbf{f}_i , lo que significa que su covarianza es cero ($cov(\mathbf{b}_i, \mathbf{f}_i) = 0$), siendo la varianza de \mathbf{Y}_i :**

$$\Sigma_i = VAR(\mathbf{Y}_i) = VAR(\boldsymbol{\varepsilon}_i) = \mathbf{Z}_i \Lambda \mathbf{Z}_i' + \mathbf{R}_i \quad .$$

La matriz Λ contiene $[(v + 1)^2 + (v + 1)] / 2$ parámetros característicos de la población estudiada. La matriz \mathbf{R}_i contiene $(q_i^2 + q_i) / 2$ parámetros relacionados con la distribución de la respuesta realizadas sobre un mismo individuo i a lo largo del tiempo. \mathbf{R}_i puede ser considerada como parte de una matriz de covarianzas \mathbf{R} , diagonal en bloques (cada bloque corresponde a un individuo i), que contendría un número de parámetros igual a:

$$1/2 \left(\sum_{i=1}^n (q_i^2 + q_i) \right) \quad . \quad (9)$$

2. Estimación de los Parámetros.

La estimación de los parámetros incluidos en el modelo jerárquico puede basarse en la teoría de mínimos cuadrados, máxima verosimilitud o métodos empíricos Bayesianos. Si conocemos los verdaderos valores de los parámetros incluidos en las matrices Λ y R_i -para todo i-, la estimación de los efectos fijos ($\hat{\beta}$) se puede realizar suponiendo que las matrices inversas necesarias existen, mediante el estimador generalizado de mínimos cuadrados:

$$\hat{\beta} = \sum_{i=1}^n (X_i' \Sigma_i^{-1} X_i)^{-1} \sum_{i=1}^n X_i' \Sigma_i^{-1} y_i \quad (10)$$

que es el mejor estimador lineal insesgado, y además máximo verosímil. La realización de los efectos aleatorios (\hat{b}_i) puede derivarse de una extensión del teorema de Gauss-Markov que cubre dichos efectos y fue obtenida por Harville (1976;1977):

$$\hat{b}_i = \Lambda Z_i' \Sigma_i^{-1} (y_i - X_i \hat{\beta}) \quad (11)$$

Las expresiones para los errores estándar de $\hat{\beta}$ y \hat{b}_i se pueden encontrar en el artículo del mismo autor.

Cuando no conocemos Λ ni R , es necesario realizar una estimación de los parámetros contenidos en ambas matrices y sustituir Σ_i^{-1} por su estimación $\hat{\Sigma}_i^{-1}$ en las expresiones (10) y (11), obteniendo una estimación de

los efectos fijos y realizaciones de los efectos aleatorios que está condicionada a la estimación de las matrices de covarianza. Por el momento, no se conoce ningún procedimiento para el ajuste de las estimaciones de los efectos, que tome en consideración la incertidumbre de utilizar $\hat{\Sigma}_i^{-1}$ en lugar de Σ_i^{-1} . Para los componentes de la varianza, se puede utilizar el método de máxima verosimilitud (MV) o el de máxima verosimilitud restringida (MVRE). Este último método -MVRE- escoge los valores que hacen máxima la función de verosimilitud de un conjunto de residuos $\hat{\mathbf{e}}_i = \mathbf{y}_i - \mathbf{X}_i \hat{\boldsymbol{\beta}}$ de los modelos de mínimos cuadrados, y hace que el estimador resultante sea insesgado (Harville 1977; Dempster, Rubin, Tustsakawa 1981; Laird y Ware 1982; Jennrich y Schluchter 1986). El sistema exige un procedimiento iterativo, que computacionalmente puede ser bastante largo y requerir abundante memoria de ordenador. Tanto la duración como la memoria necesaria aumentan a medida que se incrementa el tamaño muestral (n) y el número de columnas de las matrices \mathbf{Z}_i o \mathbf{X}_i .

El número de parámetros que debe estimar el modelo jerárquico es bastante elevado, debido fundamentalmente a que en los diseños mixtos o no-balanceados cada individuo tiene una matriz \mathbf{R}_i de diferente dimensión. Los modelos que implican la estimación de una gran cantidad de parámetros **precisan tamaños muestrales grandes, que son caros y difíciles de conseguir** en estudios longitudinales. Por esta razón, **se suelen introducir en el modelo restricciones y postulados que conlleven la estimación de un menor número de parámetros, pasando en general por una reestructuración y modelización de Λ y \mathbf{R}_i .** Jennrich y Schluchter (1986)

ofrecen una recopilación muy interesante y completa de los diferentes algoritmos para la estimación de los parámetros del modelo jerárquico, cuando suponemos distintas estructuras y modelos para la varianza de \mathbf{Y}_i . Una de las estructuras más sencillas y utilizadas en el análisis considera que:

$$\mathbf{R}_i = \sigma^2 \mathbf{I}_{q_i \times q_i} \quad , \quad (12)$$

donde $\mathbf{I}_{q_i \times q_i}$ es la matriz identidad de orden q_i . **Laird y Ware (1982)** denominan esta estructura como "independencia condicional", ya que **asume dicha independencia entre las observaciones realizadas sobre un mismo individuo i , cuando condicionamos a los efectos aleatorios \mathbf{b}_i** . Por supuesto, esta estructura tiene sus ventajas e inconvenientes, y su utilización precisa de un cuidadoso análisis de residuos para comprobar si es aplicable en cada caso.

3. Implementaciones del Modelo Jerárquico.

La primera implementación del modelo jerárquico fue la realizada en el paquete ML3 (Goldstein y McDonald 1988; Goldstein 1989; Proser, Rabash y Goldstein 1990; Goldstein y Rabash 1992); más recientes son las implementaciones en el programa BMDP5V (Dixon y Meridian 1992) del paquete estadístico BMDP (1992), o del procedimiento MIXED de la versión 6.07 del módulo STAT integrado en el paquete estadístico SAS para el sistema operativo VMS (SAS Technical Report P-229 1992).

La principal diferencia entre las implementaciones más recientes (BMDP y SAS) es que el procedimiento MIXED permite la modelización de la matriz Λ , mientras que BMDP admite una modelización más restringida, precisando un esfuerzo adicional de programación en FORTRAN por parte del usuario. Otra diferencia estriba en que los test de hipótesis sobre los efectos fijos en el procedimiento BMDPV5 se basan en la distribución χ^2 , y los del SAS en la distribución F de Snedecor. Ambos test son asintóticamente equivalentes. El BMDP realiza una imputación de los datos faltantes en la variable respuesta, siempre y cuando sean conocidos los valores de todas las variables explicativas. El SAS excluye del análisis las observaciones que presenten datos faltantes en la variable respuesta o en cualquier variable explicativa.

En nuestro análisis utilizaremos la implementación de SAS debido a que permite una modelización de Λ menos costosa. Además, la especificación de los modelos requiere un menor número de instrucciones, permitiendo incorporar los procedimientos necesarios mediante un lenguaje de programación.

III. PLANTEAMIENTO DE NUESTRO ANÁLISIS DE EVOLUCIÓN.

El estudio del seguimiento real efectuado sobre los pacientes del ensayo LLC-80, cuyos resultados se presentan en el capítulo 5, refleja una estructura de datos no-balanceados para la que resulta apropiado el modelo jerárquico como método de análisis de evolución.

Efectuaremos un análisis de evolución para cada una de las tres variables respuesta (LOGNLYMP, HB y PLAQ) por separado, considerando las variables explicativas de interés medidas en el balance inicial -edad, sexo STADEN ...- y el tiempo de evolución (T) medido en meses de 30 días. La utilización del modelo jerárquico implica modelizar la media y la varianza de la variable respuesta. El modelo para la media depende de los efectos fijos y aleatorios que se incluyan en el análisis, mientras que la modelización de la varianza requiere además escoger la estructura de las matrices Λ y R_i . La estimación de los parámetros del modelo de covarianza se realizará empleando el método de máxima verosimilitud restringida -MVRE- (Harville 1974).

A. Modelización de la Media de la Variable Respuesta.

Vamos a considerar que Y_i es el vector de respuestas medidas sobre el individuo i , en los diferentes instantes de la escala de seguimiento $t_{i1}, t_{i2}, \dots, t_{iq_i}$. Asumiremos que el balance inicial se realiza en el origen de la escala de seguimiento, es decir que $t_{i1}=0$ para cualquier paciente i . Tras explorar la relación entre Y_i y el tiempo, admitiremos que el modelo intraindividual del análisis es lineal de parámetros $b_i^* = [a_i \ b_i]'$, y se puede

escribir:

$$Y_i | \mathbf{b}_i^* = \mathbf{Z}_i \mathbf{b}_i^* + \mathbf{f}_i .$$

En este modelo se consideran dos efectos intraindividuales: **el término independiente** a_i y la **pendiente** b_i **de la recta de evolución de la variable respuesta en el tiempo**. La matriz \mathbf{Z}_i es la siguiente:

$$\mathbf{Z}_i = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 1 & t_{i2} \\ 1 & t_{i3} \\ \vdots & \vdots \\ 1 & t_{iq_i} \end{bmatrix} ,$$

y \mathbf{f}_i es un vector aleatorio que suponemos tiene distribución NMV_{q_i} , con vector de medias $\mathbf{0}$ y matriz de covarianzas \mathbf{R}_i cuya estructura especificaremos más adelante. Antes de decidir la estructura de \mathbf{Z}_i se realizaron estudios de la linealidad de las respuestas en el tiempo, y de la necesidad de considerar un polinomio de segundo orden.

Cuando no incluimos en el modelo ninguna otra variable, un segundo paso considera que \mathbf{b}_i^* es un vector aleatorio, con distribución NMV_2 , de media $\boldsymbol{\beta}$ y matriz de covarianzas $\boldsymbol{\Lambda}_{2 \times 2}$ -la estructura de $\boldsymbol{\Lambda}_{2 \times 2}$ se especifica posteriormente-. Considerando que el vector $\mathbf{b}_i = \mathbf{b}_i^* - \boldsymbol{\beta}$ centra los efectos intraindividuales en $\mathbf{0}$, el modelo Jerárquico puede escribirse:

$$Y_i = \mathbf{Z}_i \boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}_i \mathbf{b}_i + \mathbf{f}_i ,$$

donde $\beta = [a \ b]'$ es un vector que contiene dos **efectos fijos**: media de los términos independientes en los modelos intraindividuales (a) y media de las pendientes de las rectas de evolución (b) -efecto fijo del tiempo-.

Este modelo admite una generalización que permite considerar grupos con evolución diferente ($\beta_j = [a_j, \ b_j]'$). Si s_j es un vector línea que caracteriza al grupo j, de acuerdo a las variables explicativas medidas en el balance inicial y al diseño considerado, y

$$S_j = \begin{bmatrix} s_j & 0 \\ 0 & s_j \end{bmatrix} ,$$

para un individuo i, del grupo j, el modelo se escribe:

$$Y_i = Z_i S_j \delta + Z_i b_i + f_i ,$$

donde $\delta = [\delta_a, \ \delta_b]'$ son los **efectos fijos** sobre la respuesta correspondientes a las variables incluidas en s_j . Estos parámetros verifican: $a_j = s_j \delta_a$ y $b_j = s_j \delta_b$; es decir

$$\beta_j = S_j \delta .$$

B. Modelización de la Varianza de la Variable Respuesta.

Una vez definida la matriz Z_i , es necesario escoger la estructura de las matrices Λ y R_i con el fin de completar el modelo para la varianza de la variable respuesta. En principio no supondremos ningún modelo particular para

la matriz Λ , que contiene tres parámetros correspondientes a las varianzas de a y b, y su covarianza:

$$\Lambda = \begin{bmatrix} \sigma_a^2 & \sigma = \text{cov}(a, b) \\ \sigma = \text{cov}(a, b) & \sigma_b^2 \end{bmatrix} .$$

Además, consideramos que la matriz Λ es diferente en cada grupo de tratamiento. Si posteriormente no podemos rechazar la homogeneidad de Λ según el tratamiento, o la hipótesis de que algún parámetro sea igual a cero, consideraremos otros modelos más simples.

El modelo para la matriz R_i será el especificado en (12):

$$R_i = \sigma^2 I_{q_i \times q_i} ,$$

que consta de un sólo parámetro (σ^2) -el componente de la varianza de la variable respuesta considerado constante en el tiempo e igual para todos los individuos-. Como en el caso de Λ , se contrasta la necesidad de estimar un σ^2 diferente en cada grupo de tratamiento. Otros modelos para R_i requieren tal cantidad de recursos de Hardware que resultan ser irrealizables en la práctica.

C. El Contraste de Hipótesis.

Salvo en algunos diseños balanceados, los contrastes de hipótesis del modelo jerárquico implementado en SAS **se basan en aproximaciones a la distribución del test estadístico correspondiente**. Nuestro análisis implica la modelización de la covarianza y de la media de la variable respuesta. En

consecuencia, **podemos contrastar diferentes hipótesis sobre dicha covarianza y los efectos incluidos en el modelo para la media.**

1. Contraste de Hipótesis sobre la Covarianza.

Realizaremos dos test diferentes sobre los parámetros del modelo de covarianza para la variable respuesta. Por una parte, contrastaremos si cada uno de los parámetros incluidos en las matrices Λ y R_j , es igual a cero, basándonos en la distribución aproximadamente normal de las estimaciones realizadas por el método de máxima verosimilitud restringida (MVRE). Por otra parte, podemos contrastar dos modelos diferentes de covarianza para un mismo conjunto de datos utilizando el test de la razón de verosimilitudes (TRV), siempre y cuando uno de los modelos esté incluido en el otro. La razón de verosimilitudes sigue una distribución que se aproxima a una χ^2 , con grados de libertad igual a la diferencia en el número de parámetros de ambos modelos de covarianza. El TRV nos facilita la comparación de diferentes estructuras y modelos para Λ y R_j .

2. Contraste de los Efectos del Modelo para la Media.

Los contrastes de hipótesis de mayor interés en nuestro análisis son los concernientes a los parámetros correspondientes a **efectos fijos incluidos en el vector δ** . El contraste más simple es la igualdad entre dos componentes de δ_a o δ_b . El estadístico utilizado se aproxima a una distribución T de Student. En general, las hipótesis de interés a contrastar $-H_0-$ afirman que todos o parte

de los efectos fijos incluidos en δ_a o δ_b , son iguales entre sí, frente a la alternativa de que al menos hay dos efectos distintos.

En notación matricial la hipótesis H_0 se puede escribir:

$$H_0: L' \delta = 0$$

donde L es la matriz que define el contraste de interés entre los parámetros δ_a , δ_b incluidos en el vector de efectos fijos δ . Si H_0 es cierta, los efectos incluidos en la hipótesis (H_0) no aportan información para explicar la variable respuesta.

Los denominados “tests parciales de la F” escogen la matriz L para comparar el componente de la varianza de la variable respuesta explicada por dos modelos alternativos: uno de los modelos contiene todos los efectos contemplados en la hipótesis H_0 , mientras que el otro no contiene ninguno de ellos. La comparación se realiza mediante un test estadístico que se aproxima a la distribución F de Snedecor, con un número de grados de libertad en el numerador igual al rango de la matriz L . Los grados de libertad del denominador deben ser, sin embargo, aproximados mediante diferentes métodos.

Las aproximaciones basadas en el método de Satterthwaite (McLean and Sanders 1988), para calcular el número de grados de libertad de la distribución T o del denominador de la F de Snedecor, consumen gran cantidad de tiempo y memoria del ordenador. La descripción de los estadísticos y formas en que se aproximan los grados de libertad de sus distribuciones se

pueden encontrar en SAS Technical Report P-229 (1992). Keumbee and Chough (1994) realizan una evaluación de diferentes aproximaciones.

En nuestro análisis estamos interesados, sobre todo, en los **“tests de paralelismo” de la pendiente de evolución de la variable respuesta**, que contrastan la igualdad del efecto fijo del tiempo -pendiente- en diferentes grupos de pacientes. Para lograrlo, construimos el vector \mathbf{s}_j de manera que incluya los indicadores del grupo al que pertenece el paciente y contrastamos la igualdad de las componentes de δ_b correspondientes. Aceptar dicha igualdad equivale a asumir la homogeneidad de las pendientes de las rectas de evolución, mientras que su rechazo significa admitir que las pendientes de las rectas de evolución son diferentes en los distintos grupos de pacientes. En este último caso, diremos que la evolución de la variable respuesta es significativamente diferente en los distintos grupos, **admitiendo entonces la existencia de diferentes patrones de evolución de la variable respuesta en el tiempo**, en los grupos definidos por las variables correspondientes medidas en el balance inicial.

De forma similar, contrastamos la igualdad de los efectos fijos incluidos en el vector δ_a , para conocer si los términos independientes de los modelos intraindividuales son diferentes en los distintos grupos definidos por el conjunto de indicadores en \mathbf{s}_j .

IV. ESTRATEGIA DEL ANÁLISIS.

Para alcanzar los objetivos de nuestro trabajo debemos identificar los diferentes patrones de evolución de LOGNLYMP, HB y PLAQ en grupos definidos por ciertas variables explicativas medidas en el balance inicial.

Existen **hipótesis que resultan de interés a priori de cualquier exploración**, como son la asociación entre la evolución de cualquiera de las tres variables respuesta con las variables explicativas edad, sexo, estadio pronóstico (STADEN) y el tratamiento administrado a los pacientes (RAND). Además, **otras variables medidas en el instante inicial pueden estar relacionadas con la evolución posterior, por lo que una exploración adecuada de la situación inicial resulta imprescindible**. En concreto, interesa estudiar el cambio experimentado en las variables respuesta durante el seguimiento de los pacientes, en relación con el valor de las mismas respuestas en el balance inicial (Zerbe, Wu y Zuker, 1994).

Con el fin de identificar los patrones de evolución, construiremos diferentes modelos jerárquicos para cada respuesta, estimando los efectos que distintas variables explicativas tienen sobre su pendiente de evolución en el tiempo. Tanto la estimación de los efectos como el contraste de hipótesis dependen de la muestra utilizada, por lo que un modelo construido a partir de

una muestra necesita ser validado -contrastado- con una muestra diferente. Esta solución sin embargo, resulta muy costosa y a veces impracticable con estudios de seguimiento. **La cuestión entonces es cómo conseguir en un solo estudio seleccionar un modelo de evolución y al mismo tiempo comprobar su validez.** El método más aceptado consiste en dividir la muestra total del estudio en dos o más submuestras, y comprobar que las estimaciones de los efectos y resultados de los contrastes son similares en todas ellas (Kleinbaum et al. 1988). Esta aproximación al análisis presenta la ventaja adicional de ser menos exigente con el “Hardware” necesario -memoria real- para utilizar el modelo Jerárquico -implementado en SAS-. No existen normas para fijar el tamaño de las submuestras, que depende de la potencia requerida en los test de hipótesis que vamos a realizar y la precisión que deseamos para las estimaciones de los efectos.

Nosotros dividimos la muestra total de los pacientes incluidos en el ensayo en dos submuestras que denominamos:

- **Muestra de Exploración (E),**
- **Muestra de Contraste (C).**

Estas muestras se seleccionan a partir de los balances iniciales ordenados por el número de identificación del paciente, mediante una función pseudo-aleatoria que genera números entre 0 y 1 a partir de una distribución uniforme. **Cada individuo de la muestra total tiene probabilidad 0'4 de ser incluido en la submuestra E y 0'6 de ser incluido en la submuestra C.**

A. Análisis de la Muestra E: Construcción de Hipótesis.

La finalidad del análisis de la muestra de exploración **es la construcción de hipótesis razonables sobre la evolución de cada variable respuesta.** Cualquier afirmación sobre la relación de la variable respuesta con otras variables, o con valores de la misma en un momento determinado, es una hipótesis que deberá ser contrastada mediante un test apropiado. Resulta evidente que el número de hipótesis que podemos considerar es bastante elevado por lo que **conviene establecer un primer filtro que permita fundamentar y precisar aquellas hipótesis susceptibles de ser consideradas en un contraste posterior basado en la muestra C.** La exploración permitirá plantear un modelo de asociación y concretar estas hipótesis. El análisis exploratorio se realiza sobre la muestra E en dos fases, que corresponden al análisis de las variables respuesta medidas en el balance inicial y al estudio de su evolución.

1. Análisis del Balance Inicial.

En el análisis del balance inicial se describen varias características de los pacientes al comienzo del seguimiento y las relaciones que presentan entre ellas. En particular se estudia el sexo, la edad, NROAREAS, NLYMP, HB, PLAQ, STADEN y tratamiento RAND. Este estudio tiene interés en sí mismo, ya que contribuye a comprender como se presenta la enfermedad en los pacientes. Sin embargo, nuestro objetivo fundamental es el descubrimiento de grupos de pacientes que puedan asociarse a diferentes patrones de evolución.

La descripción de las características de los pacientes se efectúa mediante tablas, diagramas de cajas e histogramas. La normalidad de la distribución de las variables respuesta se contrasta mediante el estadístico test W de Shapiro y Wilk (1965), que es el más potente y considerado como la mejor opción, cuando el origen de la desviación a la normal es desconocido (Seber 1984). Shapiro y Francia (1972) describen una versión (W') de dicho test para muestras grandes.

La asociación entre variables se estudia mediante modelos ANOVA o MANOVA implementados mediante el procedimiento GLM de SAS. Los modelos MANOVA se utilizan para analizar la explicación simultánea de las tres respuestas (LOGNLYMP, HB, PLAQ) en función del sexo, la edad y el NROAREAS. Estos modelos facilitan la búsqueda de una categorización de edad y NROAREAS con significado global sobre las tres variables respuesta, además del estudio de la correlación parcial entre las mismas. **La relación entre los factores se estudiará mediante modelos logísticos para datos categóricos**, implementados en el procedimiento CATMOD de SAS.

Todas las representaciones gráficas (diagramas de cajas y dispersión) se realizan utilizando el paquete estadístico SPSS (1993). En los diagramas de cajas se señalan la mediana y los percentiles 25% y 75%. Las circunferencias y asteriscos representan, respectivamente, valores que se separan más de 1'5 y tres veces la longitud de la caja, a partir de los percentiles mencionados.

Los resultados del **análisis del balance inicial** se presentan en el Capítulo 6. Las **hipótesis sobre la evolución** que se formulan a partir de dichos resultados se exponen en el capítulo 8.

2. Análisis de la Evolución en la Muestra de Exploración.

En una segunda fase se estudia la evolución de cada una de las variables respuesta en función del tiempo, considerando como factores explicativos todos aquellos que han demostrado su asociación con la respuesta en la primera fase o análisis del balance inicial. Entre ellas, **se seleccionan los factores que identifican diferentes patrones de evolución** utilizando modelos jerárquicos (MJ) para la variable respuesta, según lo que hemos comentado previamente.

En primer lugar se investiga un modelo para la covarianza, ensayando diferentes estructuras a partir del modelo que admite la posible heterogeneidad de Λ y R , según el tratamiento administrado a los pacientes. Después, **seleccionamos los factores que identifican diferentes patrones de evolución de la variable respuesta**. El ajuste de los modelos se realiza utilizando los procedimientos de estimación y test de hipótesis señalados anteriormente.

Una vez seleccionado el modelo de evolución para la variable respuesta considerada, estudiamos la normalidad y homocedasticidad de los residuos (diferencia entre el valor observado y la predicción de la respuesta) mediante diferentes diagramas de dispersión. Para informar sobre el ajuste a la distribución normal construiremos un diagrama de normalidad -"Q-Q plot"- y ofreceremos la correlación entre los cuantiles de la muestra de residuos y los correspondientes a la distribución normal. A partir del cuadrado de dicha correlación y del tamaño muestral, es posible realizar de forma sencilla una aproximación al test de ajuste de Shapiro-Francia (Royston 1993).

El análisis de la evolución se realiza sobre dos cohortes diferentes de pacientes, los clasificados en estadios pronóstico A y B al inicio del tratamiento; el diseño del ensayo realiza la asignación aleatoria del tratamiento en los estratos definidos por el estadio. No estudiamos la evolución de los pacientes clasificados en estadio C, ya que sólo disponemos de los datos de un escaso número de pacientes, que además tienen supervivencias cortas. En cualquier caso, debido a la corta supervivencia, la importancia de la descripción de patrones de evolución en el estadio C es relativamente menor.

Los resultados de este análisis se presentan en el Capítulo 7.

B. Análisis de la Muestra C: Contraste de Hipótesis.

El análisis de la muestra de contraste pretende confirmar las hipótesis establecidas a partir del análisis del balance inicial y del estudio de la evolución en la muestra de exploración. Los modelos de evolución seleccionados equivalen a hipótesis complejas sobre la evolución de las variables respuesta. **Sólo consideraremos patrones de evolución diferente cuando resulte significativo el test de paralelismo -basado en la distribución F-, tanto en la muestra de exploración como en la de contraste.**

Los resultados de este análisis se presentan en el Capítulo 8.

Capítulo 5.

Descripción del Seguimiento de los Pacientes en
Estudio.

En este capítulo describimos cuándo se han realizado los balances de los 968 pacientes incluidos en el ensayo LLC-80, con el fin de conocer la estructura real de los datos y los desbalances existentes.

I. FECHA EN QUE SE HA REALIZADO EL BALANCE INICIAL.

El origen de la escala temporal de seguimiento t_0 se corresponde con la aleatorización. Lógicamente el balance inicial debe haberse realizado en un instante t_1 anterior a t_0 . Sin embargo, 46 balances iniciales tienen fecha posterior: 34 entre 1 y 15 días, y 12 más de 20 días después de la aleatorización. Los centros participantes en el ensayo disponían de 15 días para remitir el formulario del balance inicial al secretariado del estudio, por lo que hay que suponer que la fecha registrada en estos balances es la de cumplimentación del formulario y no la fecha en que se ha realizado la observación de las variables sobre el paciente. La distribución del tiempo en que se ha realizado el balance inicial, en relación con la fecha de aleatorización, se resume en la **Tabla 13**.

Tabla 13. Fecha de los Balances Iniciales.

Fecha	Porcentaje
En el mismo día o uno antes de la Aleatorización	18'7%
entre 2 y 15 días antes	33'0%
entre 16 y 30 días antes	24'2%
entre 31 y 60 días antes	14'2%
61 ó más días antes	5'1%
Después de la aleatorización *	4'8%

* Estos balances han tenido que realizarse necesariamente antes de la aleatorización, aunque figure una fecha posterior.

En nuestro estudio consideraremos que la situación descrita en el balance inicial es la que corresponde a t_0 , lo que equivale a identificar $t_1 \equiv t_0$. **Esta identificación no parece que pueda introducir errores importantes en las conclusiones del estudio, teniendo en cuenta que más del 76% de los balances iniciales se realizaron dentro de los 30 días anteriores a la aleatorización; el porcentaje se incrementa hasta el 90%, cuando se extiende el período a 60 días.**

II. EL TIEMPO DE SEGUIMIENTO Y EL NÚMERO DE BALANCES.

A cada individuo i en el estudio le corresponde un tiempo de seguimiento -vivo- durante el cual se han realizado un número de balances q_i . El tiempo de seguimiento (**TIMSESEG**) toma valores entre 14 y 2.560 días, con mediana de 1.288. A un 25% de los pacientes se les ha seguido durante 931 días o menos, mientras que otro 25% de los pacientes fueron seguidos durante más de 1.746: **un 50% de los pacientes fueron seguidos entre 3 y 5 años aproximadamente.** Debido a que el tiempo de seguimiento varía de unos pacientes a otros, el número total de balances practicados sobre cada uno de ellos es una variable discreta, que toma en el estudio valores q_i , que varían desde uno hasta trece; la distribución de frecuencias se presenta en la **Tabla 14.**

Tabla 14. Distribución de frecuencias del número de balances (q_i).

q_i	Frecuencia Absoluta	%	% Acumulado.
1	56	5'8	5'8
2	95	9'8	15'6
3	91	9'4	25'0
4	140	14'5	39'5
5	133	13'7	53'2
6	104	10'7	63'9
7	113	11'7	75'6
8	91	9'4	85'0
9	57	5'9	90'9
10	37	3'8	94'7
11	32	3'3	98'0
12	14	1'4	99'5
13	5	0'5	100'0

El 94'2% de los pacientes aporta información sobre su evolución, habiéndose realizado dos o más balances sobre cada uno de ellos. En el 75% de los casos el número de balances recogidos está entre tres y nueve.

A. Localización Temporal de los Balances de Seguimiento.

Los días transcurridos desde la aleatorización de un paciente hasta cada uno de sus balances de seguimiento k -número de balance entre el dos y el trece- son variables (T_k) que se describen en la **Tabla 15**.

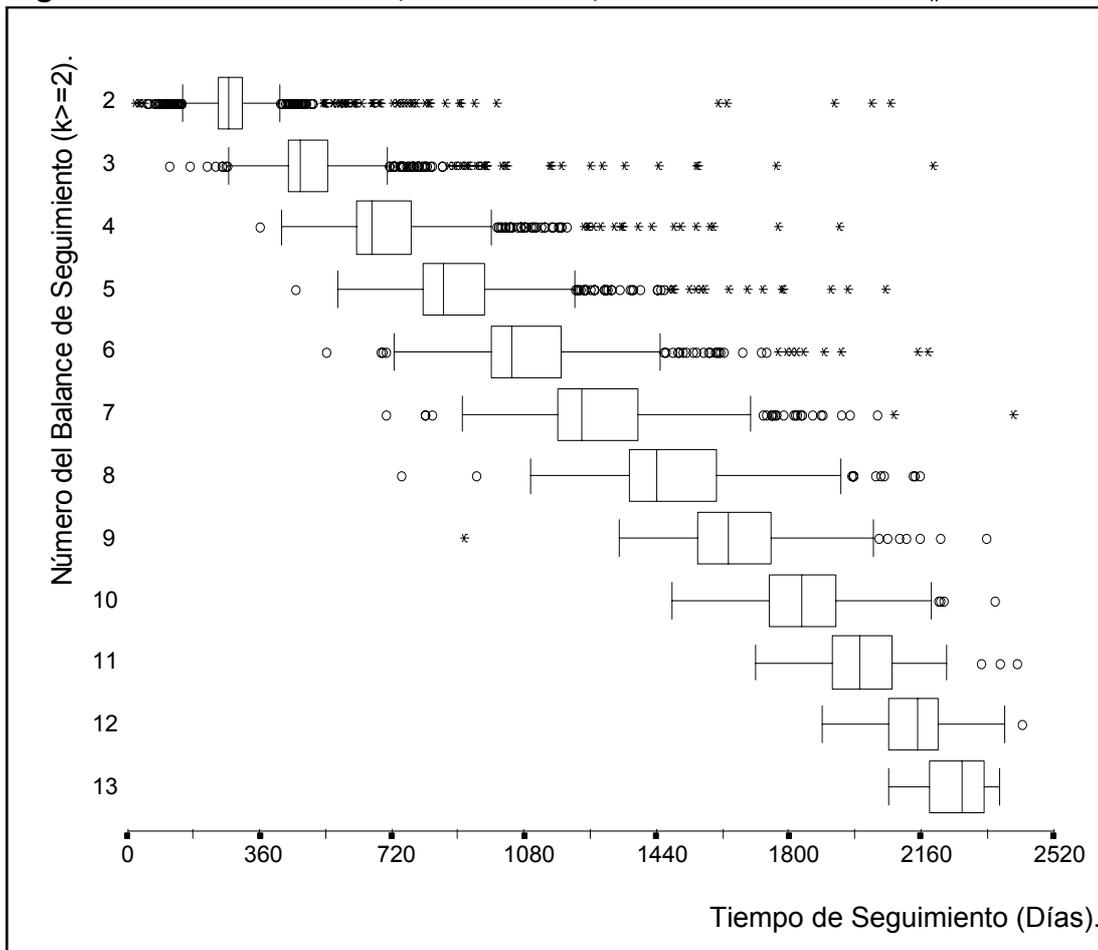
Tabla 15. Descripción del Tiempo -días- hasta que se realiza el balance k : T_k .

k	N	\bar{T}_k	D.E.	MIN	P _{25%}	P _{50%}	P _{75%}	MAX	IIQ	Rango
2	912	304'7	172'7	21	248	275	315	2.075	67	2.054
3	817	516'4	169'4	112	437	473	546	2.191	109	2.079
4	726	720'1	180'0	359	623	667	775	1.938	152	1.576
5	586	917'5	200'7	457	807	861	971	2.063	164	1.606
6	453	1.104'6	210'9	541	991	1.047	1.179	2.179	188	1.638
7	349	1.297'1	218'8	703	1.171	1.239	1.392	2.412	218	1.709
8	236	1.492'1	205'5	744	1.368	1.439	1.605	2.154	238	1.410
9	145	1.671'8	192'2	915	1.554	1.637	1.750	2.335	196	1.420
10	88	1.852'9	157'5	1.483	1.748	1.837	1.930	2.361	182	878
11	51	2.012'2	146'5	1.709	1.919	1.995	2.081	2.422	162	713
12	19	2.146'1	136'7	1.889	2.071	2.151	2.221	2.436	150	547
13	5	2.247'0	122'2	2.071	2.182	2.274	2.332	2.376	150	305

N=número de pacientes. \bar{T}_k = Media. D.E.=desviación estándar. P_{x%} percentil x%. MIN=mínimo. MAX=máximo. IIQ=P₇₅-P₂₅. Rango=MAX-MIN.

Las distribuciones de T_k se representan en la **Figura 3** mediante un diagrama de cajas, que resalta la superposición en el tiempo de la realización de los diferentes balances de seguimiento.

Figura 3. Distribución del Tiempo -días- hasta que se realiza el balance k: T_k .



Las desviaciones estándar (D.E.), los intervalos intercuartílicos (IIQ) de la **Tabla 15**, junto a la representación del diagrama de cajas (**Figura 3**) permiten observar un aumento progresivo en la dispersión de T_k para los balances de

seguimiento entre el segundo y el séptimo u octavo; la dispersión disminuye en los balances posteriores. El aumento en la dispersión es debido fundamentalmente **a la tendencia a retrasar los balances respecto a la fecha prevista inicialmente.**

La información que aporta la **Figura 3** se complementa con la **Tabla 16**, en la que se presenta, para cada balance de seguimiento k , la distribución de T_k en clases de seis meses -de 30 días cada uno-. Aparte de la primera, las clases están centradas en los meses señalados en el protocolo para realizar los balances de seguimiento: 9, 15, 21,.... Esta tabla permite cuantificar la tendencia a realizar los balances según la pauta prevista y el elevado porcentaje de balances que se retrasan respecto a la fecha señalada en el protocolo.

La distribución marginal del tiempo de seguimiento (**Tabla 16**) nos da idea de la cantidad de información recogida en cada uno de los tramos de la escala temporal. Como es lógico, dicha información es mayor en los intervalos más próximos al origen de la escala, exceptuando los primeros seis meses en que no estaba prevista ninguna revisión.

Tabla 16. Localización Temporal de los Balances de Seguimiento (k).

k	Tiempo de Seguimiento (meses de 30 días).														Total
	[0-6]	[7-12]	[13-18]	[19-24]	[25-30]	[31-36]	[37-42]	[43-48]	[49-54]	[55-60]	[61-66]	[67-72]	[73-78]	[79-84]	
2 Frecuencia	66	716	86	21	13	4			1	1	1	3			912
% de Fila.	7'2	78'5	9'4	2'3	1'4	0'4			0'1	0'1	0'1	0'3			100'0
3 Frecuencia	2	48	553	147	39	17	3	3	1				1		817
% de Fila.	0'2	5'9	67'7	18'0	4'8	2'1	0'4	0'4	0'1				0'1		100'0
4 Frecuencia	1	55	417	166	55	18	7	5	1	1					726
% de Fila.	0'1	7'6	57'4	22'9	7'6	2'5	1'0	0'7	0'1	0'1					100'0
5 Frecuencia	1	37	327	134	50	17	12	5	2	1					586
% de Fila.	0'2	6'3	55'8	22'9	8'5	2'9	2'0	0'9	0'3	0'2					100'0
6 Frecuencia	4	30	240	100	48	18	6	5	1	1					453
% de Fila.	0'9	6'6	53'0	22'1	10'6	4'0	1'3	1'1	0'2	0'2					100'0
7 Frecuencia	1	3	25	160	90	40	16	11	2	1					349
% de Fila.	0'3	0'9	7'2	45'8	25'8	11'5	4'6	3'2	0'6	0'3					100'0
8 Frecuencia	1	1	13	104	62	35	14	6							236
% de Fila.	0'4	0'4	5'5	44'1	26'3	14'8	5'9	2'5							100'0
9 Frecuencia	1		8	58	51	15	10	2							145
% de Fila.	0'7		5'5	40'0	35'2	10'3	6'9	1'4							100'0
10 Frecuencia	4	34	35	9	5	1									88
% de Fila.	4'5	38'6	39'8	10'2	5'7	1'1									100'0
11 Frecuencia	4	20	20	5	2										51
% de Fila.	7'8	39'2	39'2	9'8	3'9										100'0
12 Frecuencia	2	8	7	2	19										19
% de Fila.	10'5	42'1	36'8	10'5	100'0										100'0
13 Frecuencia	1	3	1												5
% de Fila.	2'0	6'0	2'0												100'0
Total															
Frecuencia	68	765	695	627	579	477	344	277	203	154	106	61	24	7	4387
% de Fila.	1'6	17'4	15'8	14'3	13'2	10'9	7'8	6'3	4'6	3'5	2'4	1'4	0'5	0'2	100'0

B. Intervalos de tiempo entre balances de seguimiento consecutivos.

El tiempo transcurrido entre balances de seguimiento consecutivos (k-1 y k) es variable ($T_{k-1,k} = T_k - T_{k-1}$). En la **Tabla 17** se exponen medidas de localización y dispersión de $T_{k-1,k}$ para diferentes valores de k.

Tabla 17. Descripción del Tiempo -días- transcurrido entre balances consecutivos: $T_{k-1,k}$.

Intervalo entre Balances k-1, k	N	Media	D.E.	MIN	P _{5%}	P _{25%}	P _{50%}	P _{75%}	P _{95%}	MAX
2-3	817	224'8	116'8	33	117	175	191	238	420	1.332
3-4	726	212'5	92'4	33	117	175	189	229	368	982
4-5	586	211'9	97'9	32	116	174	186	219	371	1.206
5-6	453	200'8	76'1	32	118	175	185	205	364	894
6-7	349	203'1	93'1	35	99	168	182	210	386	957
7-8	236	197'3	74'2	32	119	172	182	203	356	659
8-9	145	198'0	62'9	44	121	174	185	204	341	448
9-10	88	199'2	68'0	34	117	177	187	203	342	541
10-11	51	175'1	53'9	34	87	161	182	196	232	367
11-12	19	168'1	44'8	32	32	175	182	195	203	20
12-13	5	161'6	30'9	110	110	155	179	182	182	182

N=número de pacientes. D.E.=desviación estándar. P_{x%} percentil x%. MIN=mínimo. MAX=máximo. Rango=MAX-MIN.

La media de $T_{k-1,k}$ tiende a ser mayor al comienzo del seguimiento y disminuye a medida que transcurre éste, manteniéndose la mediana en valores estables entre 179 y 191 días -aproximadamente 6 meses-. El mínimo (MIN) tiempo transcurrido entre cada par de balances consecutivos es siempre algo superior a los 30 días. Seguramente, el adelantamiento de los balances tiene relación

con el desarrollo de complicaciones y malestar del paciente, que precipitan la siguiente revisión con el médico antes de que se cumpla el plazo fijado para la misma.

C. Balances de Seguimiento Excluidos del Análisis.

Como se ha mencionado en el capítulo 3, no incluiremos en nuestro análisis de evolución un total de 831 balances de seguimiento, debido a que se realizaron después de haber cambiado el tratamiento asignado aleatoriamente. Los cambios de tratamiento se asocian con cambios de estadio pronóstico, empeoramiento o complicación de la enfermedad y **nuestro objetivo es evaluar la evolución con el tratamiento inicialmente asignado al paciente.**

Capítulo 6.

Análisis del Balance Inicial en la Muestra de Exploración.

I. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES Y ASOCIACIONES DE INTERÉS.

A. El Sexo y la Edad.

La muestra de exploración se compone de 357 pacientes, de los cuales 223 son hombres (62'82%) y 132 mujeres (2 datos faltantes). La edad de los pacientes toma valores entre 29 y 87 años, encontrándose un 50% de las personas en el intervalo de 59 a 73, con mediana 67 años. La media de la edad es 65'2 años (error estándar 0'52). El test de Shapiro y Wilk (1965) rechaza la hipótesis de normalidad de la distribución de la edad expuesta en la **Tabla 18**.

Tabla 18. Distribución de la Edad en la Muestra de Exploración.

Edad (Años)	N	Porcentaje	Porcentaje Acumulado	Cinco Números Resumen	
<45	10	2'8	2'8	Mínimo	29
[45-50[18	5'1	8'0		
[50-55[27	7'7	15'7		
[55-60[36	10'3	25'9	Percentil 25%	59
[60-65[65	18'5	44'4		
[65-70[56	16'0	60'4	Mediana	67
[70-75[78	22'2	82'6	Percentil 75%	73
[75-80[51	14'5	97'2		
>=80	10	2'8	100'0	Máximo	87
Datos Faltantes	6				

Se ha utilizado una categorización de la edad con intervalos de 5 años de amplitud que permite, mediante una agrupación mayor, su comparación con la categorización empleada por otros autores (Chevret 1989). La media de la

edad entre los hombres (64'7) es algo inferior a la de las mujeres (65'9), pero la diferencia no resulta significativa ($p=0'228$); tampoco se rechaza la hipótesis de igualdad de varianzas ($p=0'3408$).

B. La Afectación Ganglionar, Hepática y Esplénica.

Un 37% de los pacientes en la muestra de exploración no presentaba afectación ganglionar -adenomegalias cervicales, axilares o inguinales-, ni hepatomegalia, ni esplenomegalia. Otro 37% presentaba afectación ganglionar sin esplenomegalia ni hepatomegalia. La esplenomegalia con afectación ganglionar pero sin afectación del hígado constituye el 15%, mientras que la afectación generalizada -ganglionar, esplénica y hepática- se presenta en el 6% de los pacientes. El resto de combinaciones se presentan con una frecuencia mucho más baja.

La afectación ganglionar consistente en la presentación de adenomegalias cervicales, axilares o inguinales se encuentra en el 59% de los pacientes. Entre éstos, la zona más frecuentemente afectada es la axilar (81'8%), seguida de la cervical (73'7%) e inguinal (54'4%). La combinación más frecuente es la afectación cervical, axilar e inguinal conjunta (44%), seguida de la afectación axilar exclusiva (18%) y de la afectación cervical y axilar

simultánea (15%). La afectación cervical exclusiva es poco frecuente (7%) y las otras combinaciones posibles lo son aún menos. Los test de independencia (χ^2) entre la afectación cervical, axilar e inguinal, tomadas dos a dos, son todos significativos ($p < 0'001$).

La esplenomegalia se presenta en el 24'2% y la hepatomegalia en un 9'4% del total de pacientes en la muestra de exploración. Cuando se presenta esplenomegalia es muy probable (88%) que exista afectación ganglionar simultánea; por el contrario, si un sujeto presenta esplenomegalia, ésta se acompaña de hepatomegalia sólo en el 25% de los casos. El 2'8% de los individuos presentaban esplenomegalia aislada; la hepatomegalia se presenta de forma exclusiva sólo en el 1'4% de los pacientes. La esplenomegalia resulta asociada positivamente con la hepatomegalia y con la afectación de alguna región ganglionar ($p < 0'001$).

En la **Tabla 19** se presenta la distribución de la afectación ganglionar -cervical, axilar e inguinal-, hepática y esplénica en la muestra de exploración, según el sexo y según el estadio pronóstico de los pacientes. Como resumen de dicha afectación, incluimos también la distribución del número total de áreas afectadas (NROAREAS) según las mismas variables.

Tabla 19. Distribución de la afectación Ganglionar, Esplénica, Hepática y del Número total de Áreas afectadas (NROAREAS) según Sexo, según Estadio Pronóstico (Binet et al. 1981), y en el Total de la Muestra de Exploración.

	Sexo		Estadio Pronóstico			Total
	Hombre	Mujer	A	B	C	
Adenomegalias Cervicales						*
Datos Faltantes	2		0			
No	54'71%	58'33%	79'25%	2'17%	29'17%	56'02%
Si	45'29%	41'67%	20'75%	97'83%	70'83%	43'98%
Adenomegalias Axilares						*
Datos Faltantes	2		0			
No	43'95%	62'12%	72'61%	2'17%	20'83%	50'98%
Si	56'05%	37'88%	27'39%	97'83%	79'17%	49'02%
Adenomegalias Inguinales						*
Datos Faltantes	2		0			
No	62'33%	75'00%	92'12%	11'96%	29'17%	67'23%
Si	37'67	25'00%	7'88%	88'04%	70'83%	32'77%
Esplenomegalia						*
Datos Faltantes	3		1			
No	72'52%	81'06%	93'33%	42'39%	29'17%	75'84%
Si	27'48%	18'94%	6'67%	57'61%	70'83%	24'16%
Hepatomegalia						*
Datos Faltantes	7		5			
No	89'55%	92'31%	97'08%	78'41%	70'83%	90'63%
Si	10'45%	7'69%	2'92%	21'59%	29'17%	9'38%
Número de Áreas Afectadas						*
Datos Faltantes	3		1			
0	30'04%	46'21%	52'70%	.	8'33%	36'24%
1	22'87%	15'91%	29'46%	.	8'33%	20'51%
2	12'11%	13'64%	17'43%	.	12'50%	12'64%
3	14'80%	12'88%	.	48'91%	16'67%	13'76%
4	15'70%	7'58%	.	40'22%	33'33%	12'64%
5	2'82%	1'41%	.	10'87%	20'84%	4'21%

* Test de la χ^2 significativo ($\alpha=0'05$).

El test de la χ^2 para contrastar la independencia del sexo respecto a la afectación ganglionar resultó significativo para las adenomegalias axilares ($p=0'001$) e inguinales ($p=0'014$), pero no para las cervicales ($p=0'506$). Al nivel de significación 0'05 no se rechaza la independencia entre el sexo y la presencia de esplenomegalia ($p=0'070$) o hepatomegalia ($p=0'393$). En todas las localizaciones se observó mayor porcentaje de afectación en los hombres. Los contrastes de independencia entre cualquier tipo de afectación y el estadio pronóstico son siempre significativos ($p<0'001$).

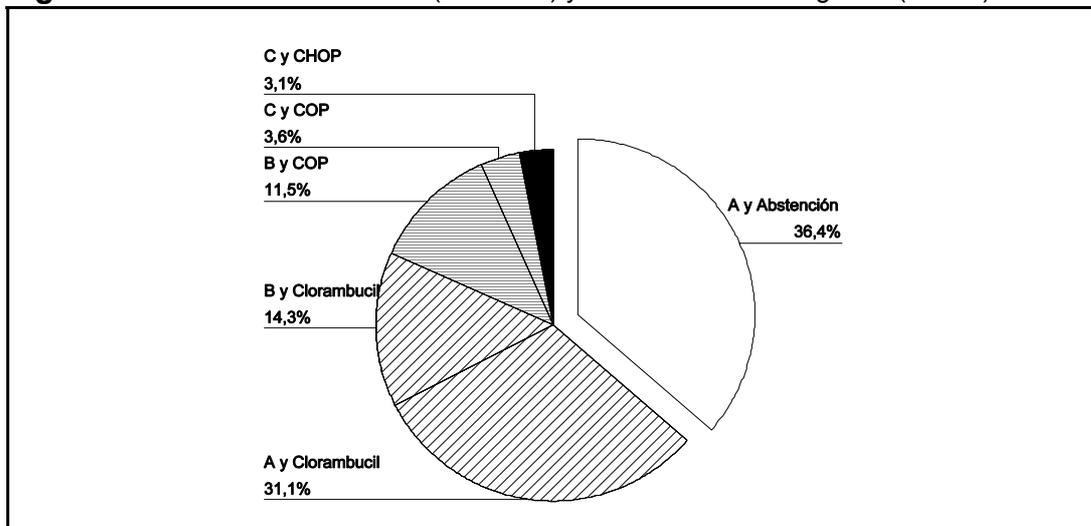
El número total de áreas afectadas (NROAREAS) se utiliza en la clasificación pronóstico de los pacientes (STADEN), por lo que no resulta extraña la asociación entre ambas variables. El 36% de los pacientes no presentan afectación de ningún área (NROAREAS=0), mientras que un 30'8% tiene afectadas tres áreas o más (**Tabla 19**). Cuando se tienen afectadas 1, 2 ó 3 áreas, lo más frecuente (aproximadamente 80% en cada caso) es la existencia de adenomegalias de cualquier localización -cervical, axilar o inguinal-. Cuando el número de áreas afectadas es 4, lo más frecuente (80%) es que estén afectadas las tres zonas ganglionares y además exista esplenomegalia. Se rechaza la independencia ($p=0'026$) entre el número de áreas afectadas y el sexo de los pacientes: los hombres tienen áreas afectadas con mayor frecuencia, en particular 1 área exclusivamente y 4 o más (**Tabla 19**).

C. Estadío Pronóstico (STADEN) y Tratamiento Asignado (RAND).

Los datos de las variables HB y PLAQ permitieron clasificar el 6'7% de los pacientes en el estadio pronóstico C de Binet et al. (1981). Aproximadamente la mitad de ellos (52%) presentaban valores de HB por debajo de 100 gr/l y un número de plaquetas (PLAQ) por debajo de 100×10^9 /litro. La inclusión en C por presentar una alteración exclusiva de HB (35%) o PLAQ (13%) -valores inferiores a los mencionados- es menos frecuente. De los pacientes que presentaban valores de HB y PLAQ por encima de dichos límites, el 27'6% fueron clasificados en el estadio B debido a que presentaban tres o más áreas afectadas ($NROAREAS \geq 3$), mientras que el resto (67'5%) lo fueron en el estadio A.

Se asignó tratamiento con clorambucil al 45'4% de los individuos en la muestra E (46% de los pacientes en estadio A y 55'4% de los pacientes en estadio B), COP al 15'1% (54'2% de los pacientes del estadio C) y CHOP al 3'1%. La **Figura 4** presenta la distribución del estadio y tratamiento asignado.

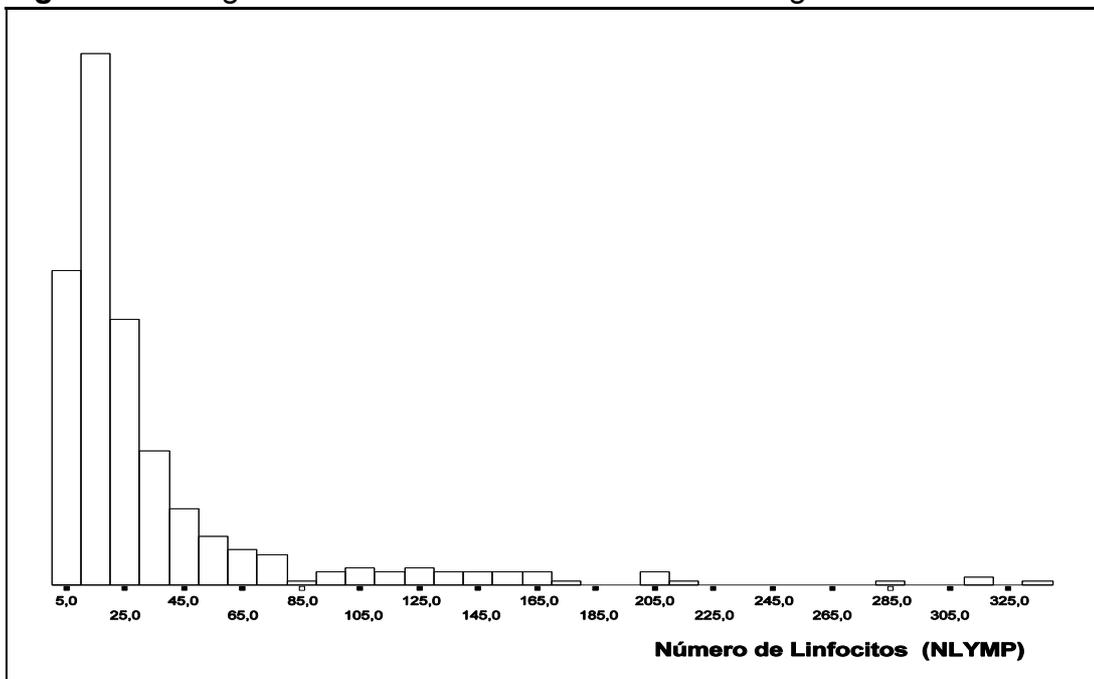
Figura 4. Distribución del Estadío (STADEN) y del Tratamiento Asignado (RAND).



D. Número de Linfocitos en Sangre Periférica (NLYMP).

El número de linfocitos por litro de sangre se expresa en unidades de 10^9 y se designa por NLYMP. El valor de esta variable se recogió en 356 pacientes de la muestra de exploración: la media es 35'52 -error estándar=2'57- y la desviación estándar 48'50. La distribución de NLYMP resulta ser muy asimétrica como puede apreciarse en la **Figura 5**, existiendo una diferencia de 16'75 entre la media y la mediana.

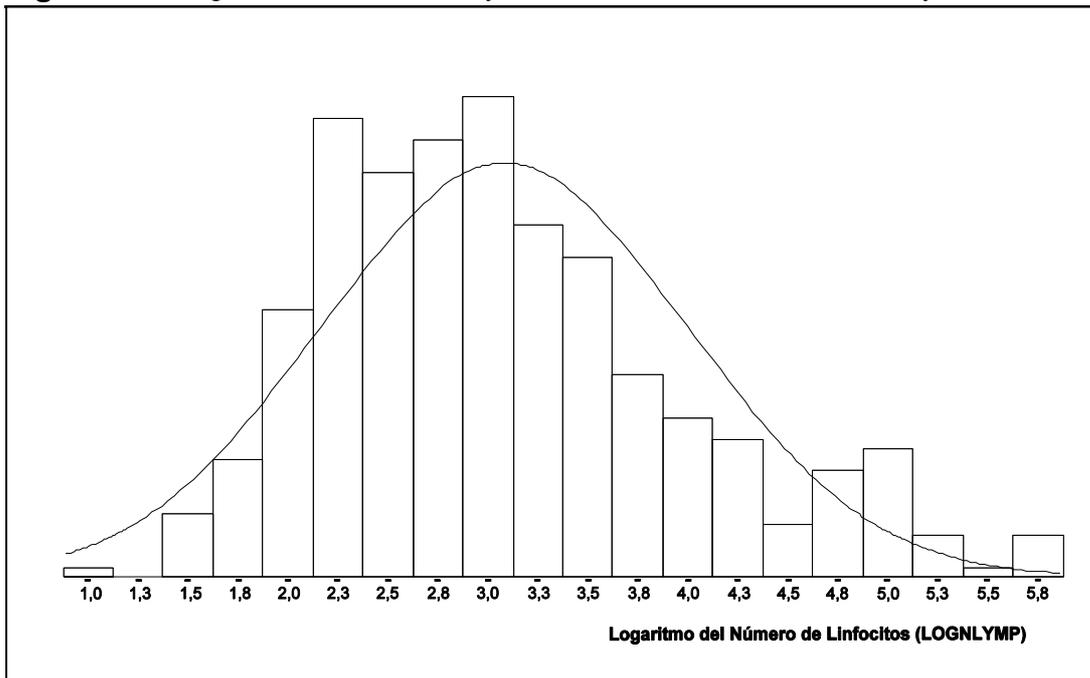
Figura 5. Histograma del Número de Linfocitos en Sangre / litro / 10^9 .



Un 50% de los pacientes presentan valores de NLYMP entre 10'98 y 35'00, que son los percentiles 25% y 75% respectivamente. Sólo el 10% de los pacientes superan el valor de 80'78; cuando esto ocurre, los valores observados son muy elevados y repercuten en la enorme variabilidad que tiene

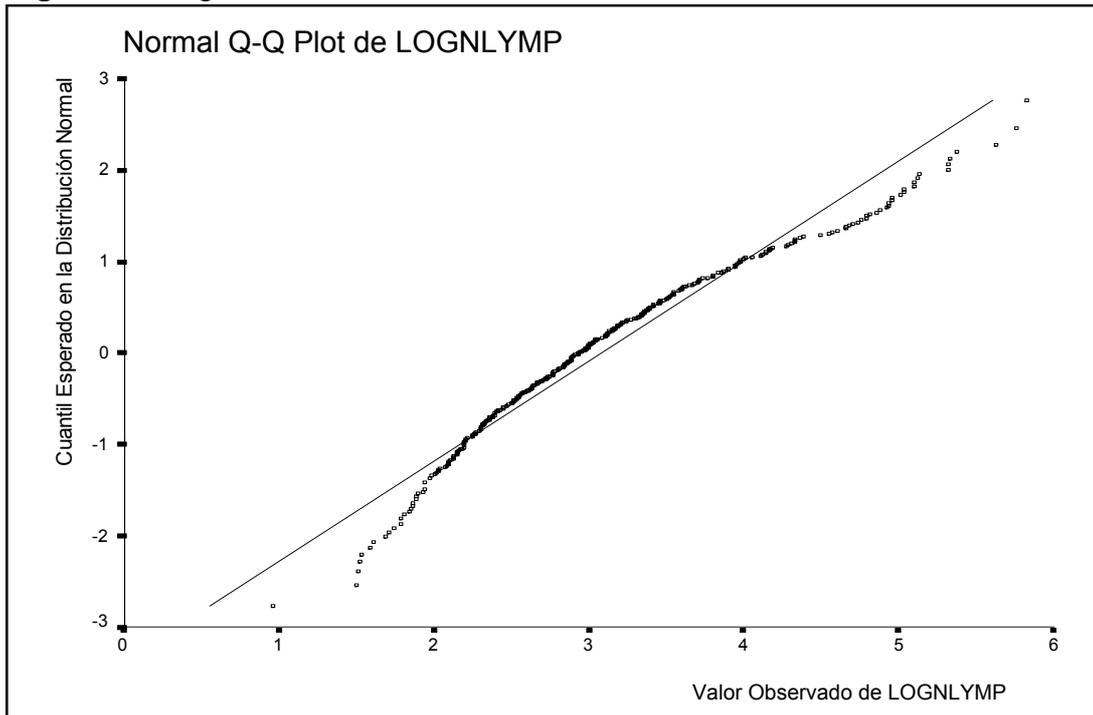
NLYMP, con un coeficiente de variación muy alto (137'55). Su transformación logarítmica (LOGNLYMP) presenta un coeficiente de variación mucho más bajo (29'63) y una distribución menos asimétrica que se aproxima mejor a la distribución normal, como puede apreciarse en la **Figura 6** y en el diagrama de normalidad (Q-Q Plot) de la **Figura 7**.

Figura 6. Histograma de LOGNLYMP y Curva Normal con la misma Media y Varianza.



La distribución de LOGNLYMP (**Figura 6**) tiene dos o tres modas que podrían corresponder a subpoblaciones diferentes según el nivel del número de linfocitos. Es importante destacar al grupo de pacientes con valores de NLYMP superiores a 80 -logaritmo de 80=4'38-, debido a que tanto el histograma de la **Figura 6** como el diagrama de la **Figura 7** los señalan como responsables de la asimetría y de la falta de ajuste a la distribución normal según el test de Shapiro y Wilk ($p < 0'0001$).

Figura 7. Diagrama de Normalidad de la Distribución de LOGNLYMP.



En la **Tabla 20** se presenta la distribución de frecuencias del número de linfocitos según el sexo y según el estadio pronóstico de los pacientes; la categorización de NLYMP se ha escogido de forma que se puedan distinguir los valores de linfocitos empleados en la clasificación de Rai et al. (1975) y que los intervalos sean al mismo tiempo compatibles con las categorizaciones empleadas por otros autores (Chevret 1989). Características numéricas de estas distribuciones pueden verse en la **Tabla 21** y representaciones gráficas en las **Figuras 8 y 10**. La **Tabla 21** presenta también características de la distribución de NLYMP según la edad y el número de áreas afectadas; en las **Figuras 9 y 11** pueden verse las representaciones gráficas correspondientes.

Tabla 20. Distribución de NLYMP según Sexo, según Estadio Pronóstico y Total.

	Sexo		Estadio Pronóstico						Total	
	Hombres	Mujeres	A		B		C			
	%	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Linfocitos										
<10	14'3	28'2	59	24'6	9	9'8	2	8'3	70	19'7
[10-15[17'9	18'3	53	22'1	10	10'9	2	8'3	65	18'3
[15-20[16'1	13'0	43	17'9	6	6'5	4	16'7	53	14'9
[20-30[18'4	13'7	36	15'0	21	22'8	2	8'3	59	16'6
[30-40[9'0	7'6	18	7'5	12	13'0	0	0'0	30	8'4
[40-50[5'8	3'1	10	4'2	7	7'6	0	0'0	17	4'8
[50-60[2'7	3'8	9	3'8	1	1'1	1	4'2	11	3'1
[60-70[1'3	3'8	4	1'7	4	4'3	0	0'0	8	2'2
[70-80[1'3	3'1	3	1'3	3	3'3	1	4'2	7	2'0
[80-90[0'4	0'0	1	0'4	0	0'0	0	0'0	1	0'3
[90-100[0'9	0'8	1	0'4	1	1'1	1	4'2	3	0'8
>=100	11'7	4'6	3	1'3	18	19'6	11	45'8	32	9'0
Total	100'0	100'0	240	100'0	92	100'0	24	100'0	356	100'0

En la **Tabla 20** destaca la diferencia en el porcentaje de hombres y mujeres con valores de NLYMP menores de 10 e iguales o superiores a 100: el porcentaje de mujeres con valores de NLYMP menores de 10 es mayor, mientras que el porcentaje de hombres con valores mayores de 100 es superior al de mujeres. Las diferencias en los porcentajes de otras clases de NLYMP no son tan grandes. La distribución de NLYMP según el estadio pronóstico (**Tabla 20**) pone de manifiesto importantes diferencias. El porcentaje de pacientes con NLYMP<40 disminuye considerablemente de la clase A a la C, a la vez que aumenta el porcentaje de pacientes con NLYMP \geq 80. Los resultados se resumen en la **Tabla 22**.

Tabla 21. Medidas de Localización y Dispersión de NLYMP según el Sexo, la Edad, el Estadio Pronóstico y el Número de Áreas afectadas (NROAREAS).

	Número de Linfocitos (NLYMP)						
	N	Media	Desviación Std	Err Std de la Media	Percentil 25%	Mediana	Percentil 75%
Sexo							
Hombres	223	40'968	55'965	3'748	12'284	20'303	39'384
Mujeres	131	27'434	29'477	2'575	9'500	16'678	32'508
Edad (años)							
<45	10	56'634	100'307	31'720	20'493	24'374	45'000
[45-50[18	23'177	16'355	3'855	12'400	17'322	30'600
[50-55[27	56'385	56'790	10'929	18'000	31'800	105'840
[55-60[36	34'640	55'790	9'298	9'630	15'539	30'808
[60-65[65	33'504	36'190	4'489	11'000	19'360	41'258
[65-70[56	35'534	52'755	7'050	10'075	18'848	36'791
[70-75[78	31'385	46'808	5'300	10'000	16'520	28'900
[75-80[50	33'402	38'036	5'379	10'837	18'969	33'282
>=80	10	22'797	15'538	4'913	14'100	17'638	21'100
Estadio							
A	240	22'340	21'507	1'388	10'000	15'772	24'808
B	92	55'117	61'568	6'419	18'264	30'100	63'807
C	24	96'651	93'824	19'152	16'050	85'450	141'250
NROAREAS							
0	129	23'171	32'167	2'832	10'108	15'870	22'400
1	73	24'362	20'381	2'385	9'639	16'560	35'000
2	44	26'483	34'314	5'173	9'794	15'967	24'731
3	49	52'398	65'962	9'423	17'250	28'140	51'840
4	45	65'512	63'347	9'443	18'300	32'016	114'454
5	15	84'923	85'711	22'131	28'900	53'760	142'500

Tabla 22. Distribución de NLYMP condicionada al Estadio (STADEN).

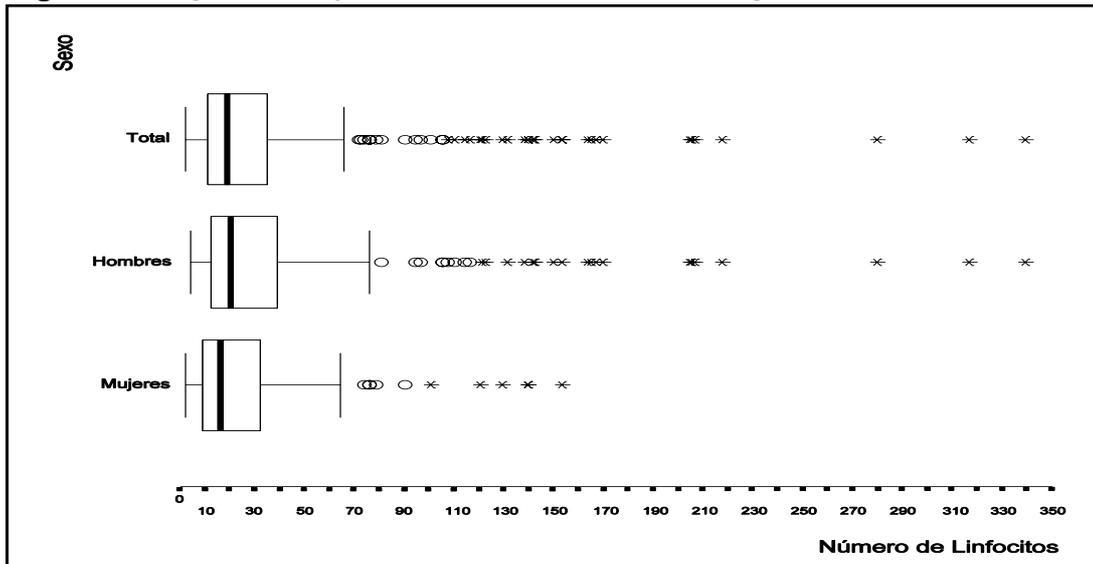
Estadio	Número de Linfocitos (NLYMP)		
	<40	[40-80[>=80
A	87'1%	10'8%	2'1%
B	63'0%	16'3%	20'7%
C	41'6%	8'4%	50'0%

La asociación del número de linfocitos (NLYMP) con cada una de las variables sexo, edad, estadio pronóstico y número de áreas se ha estudiado mediante análisis de varianza de un factor, utilizando LOGNLYMP como variable a explicar ya que presenta una distribución más simétrica. Para la edad, la categorización utilizada es la que figura en la **Tabla 21**, en la que se presentan medidas de localización y dispersión de NLYMP en las clases definidas por las variables mencionadas. Muy recientemente se han descrito métodos de comparación de medias en presencia de heterocedasticidad, que podrían utilizarse en algunos contrastes realizados más adelante en este apartado (Weerahandi 1995).

1. Efecto del Sexo.

La varianza de NLYMP en los hombres es significativamente diferente a la de las mujeres ($p=0'0001$). La diferencia de media en ambos sexos resulta significativa, considerando varianzas distintas ($p=0'0107$). Para la variable LOGNLYMP, el test que contrasta la igualdad de varianza en hombres y mujeres no es significativo ($p=0'3013$) pero la diferencia entre las medias sigue siendo significativa ($p=0'0054$), estimándose por el intervalo (0'26 a 0'30) con un nivel de confianza del 95%. Las diferencias observadas se deben esencialmente al hecho de que existe un mayor número de hombres que presentan valores extremos de NLYMP (mayores de 80), como se puede comprobar en la **Figura 8**.

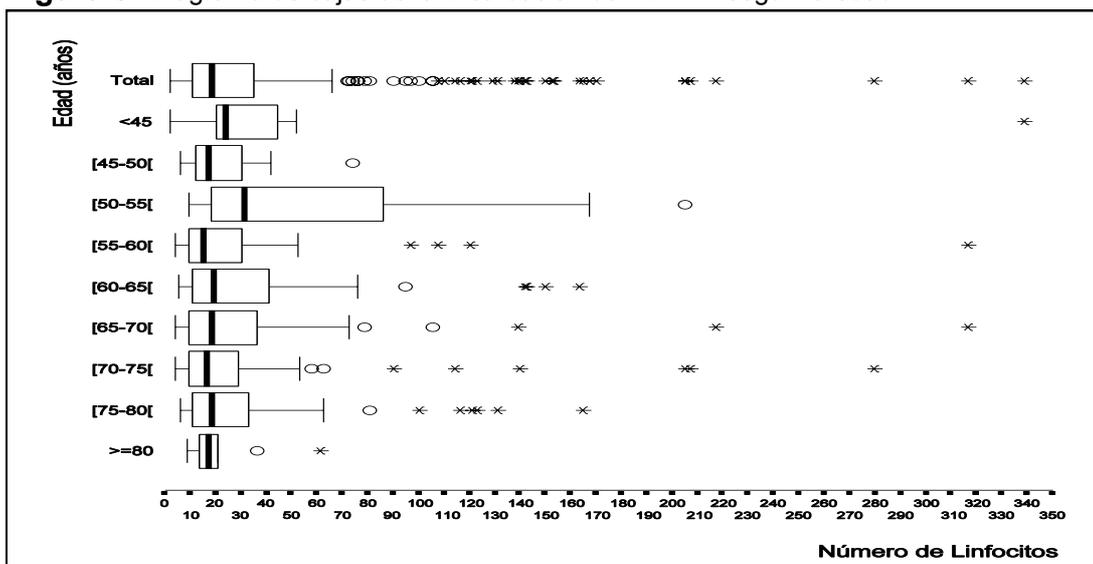
Figura 8. Diagrama de cajas de la distribución de NLYMP según el sexo.



2. Efecto de la Edad.

El diagrama de la **Figura 9** pone de manifiesto pocas diferencias en la distribución de NLYMP según las clases de edad, exceptuando el grupo de [50-55[años.

Figura 9. Diagrama de cajas de la Distribución de NLYMP según la edad.



Basándonos en el modelo de análisis de varianza de LOGNLYMP contrastamos la igualdad de los efectos de clases consecutivas, con el fin de descubrir grupos de pacientes con distribuciones diferentes. Tan sólo resultaron significativamente diferentes los efectos de tener una edad menor de 55 años y de estar incluido en clases por encima de dicha edad ($p=0'0228$), con media de LOGNLYMP más baja en el último caso. Las varianzas en esos dos grupos pueden considerarse iguales ($p=0'5742$). El contraste de la igualdad del efecto de tener una edad menor de 50 años y comprendida en el intervalo [50-55[no resulta significativo ($\alpha=0'05$).

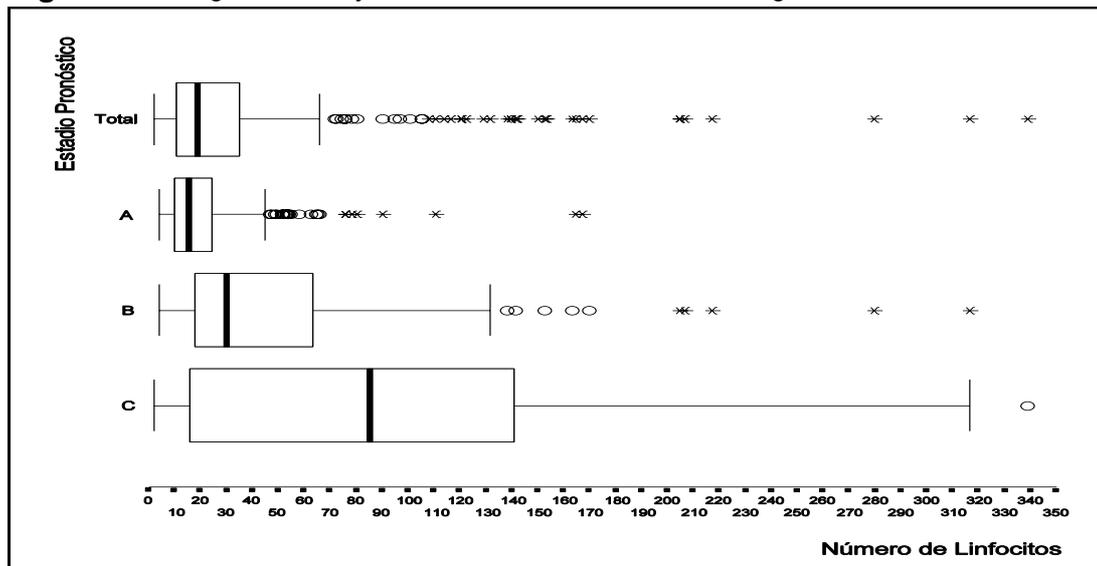
Tabla 23. Estimación y Contraste de los Efectos de Edad en LOGNLYMP.

Parámetro	Estimación	Error Std de la Estimación	T para H_0 : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT	3'2693	0'2834	11'53	3'E-26
EDAD				
>=80	-0'2952	0'4008	-0'74	0'4619
[75-80[-0'1976	0'3104	-0'64	0'5249
[70-75[-0'3352	0'3010	-1'11	0'2662
[65-70[-0'2345	0'3077	-0'76	0'4464
[60-65[-0'1676	0'3044	-0'55	0'5823
[55-60[-0'2808	0'3203	-0'88	0'3814
[50-55[0'3196	0'3318	0'96	0'3361
[45-50[-0'3169	0'3535	-0'90	0'3706
<45	0'0000	'	'	'

3. Efecto del Estadio Pronóstico.

El diagrama de la **Figura 10** expone las diferencias de la distribución de NLYMP en cada estadio pronóstico.

Figura 10. Diagrama de cajas de la distribución de NLYMP según STADEN.



La importante variabilidad observada en el estadio C es debida al elevado porcentaje de casos con valores de NLYMP ≥ 80 y con valores menores de 40 (**Tabla 20** y **Tabla 22**). En el análisis de varianza de LOGNLYMP con STADEN como único factor explicativo el estadio pronóstico explica un 17% de la variabilidad de LOGNLYMP. El test de Levene (1960) rechaza la igualdad de la varianza de LOGNLYMP en los diferentes estadios pronóstico ($p=0'0002$), por lo que el modelo no resulta apropiado para el contraste de hipótesis sobre la igualdad de medias. En la **Tabla 24** se presentan las estimaciones de los efectos del modelo y sus errores estándar, se incluyen también los resultados de los contrastes de igualdad entre cada efecto y el de la clase de referencia -clase A en este caso-, aunque están realizados bajo la hipótesis (no

aceptable) de igualdad de varianzas. Recientemente Weerahandi (1995) ha propuesto un método que tiene en cuenta este problema; otra alternativa sería la utilización de métodos no paramétricos (Conover 1980). No obstante desde el punto de vista de la exploración, el análisis realizado se considera suficiente.

Tabla 24. Estimación y Contraste de los efectos de STADEN en LOGNLYMP.

Parámetro		Estimación	Error Std de la Estimación	T para H ₀ : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT		2'8278	0'0538	52'55	0'E+00
STADEN	C	1'1035	0'1784	6'18	2'E-09
	B	0'6969	0'1022	6'82	4'E-11
	A	0'0000	'	'	'

Las diferencias en la distribución del número de linfocitos según el estadio pronóstico son evidentes a partir de la **Tabla 22**, para la cual, el contraste de independencia realizado -test exacto de Fisher- es significativo ($p < 0'0001$).

4. Efecto del Número de Áreas Afectadas.

El diagrama de la **Figura 11** permite observar diferencias en la distribución de NLYMP según el número de áreas afectadas (NROAREAS). Es posible observar un aumento en el número de linfocitos de los pacientes que presentan tres o más áreas afectadas. En el análisis de varianza de LOGNLYMP con NROAREAS como único factor explicativo, el número de áreas afectadas explica un 15'5% de la variabilidad total. El test de Levene

rechaza la igualdad de varianzas ($p < 0'0001$) en las poblaciones con diferente número de áreas afectadas. En la **Tabla 25** presentamos las estimaciones de los efectos y contrastes de igualdad de cada efecto con el de la clase de referencia -NROAREAS=0-, aunque la hipótesis de homogeneidad de varianzas no resulta aceptable.

Figura 11. Diagrama de cajas de NLYMP según el Número de Áreas (NROAREAS).

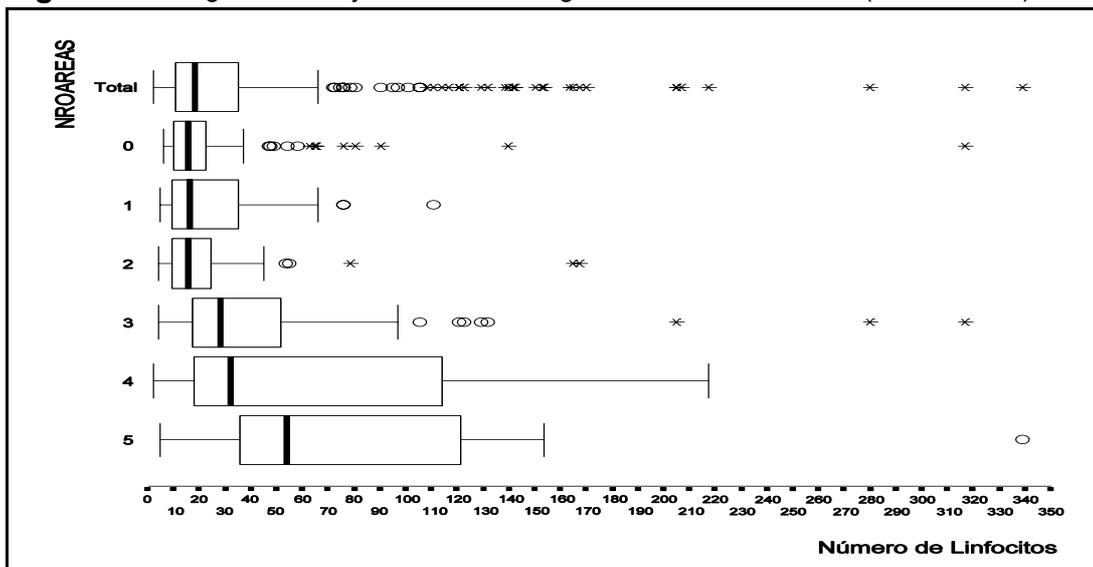


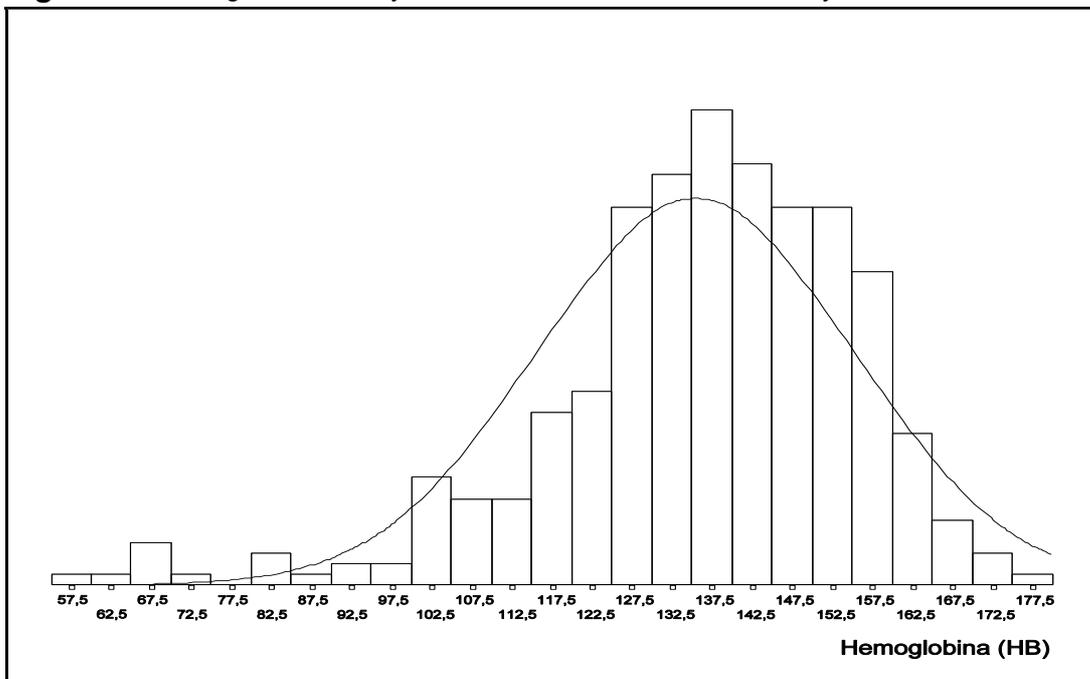
Tabla 25. Estimación y Contraste de los efectos de NROAREAS en LOGNLYMP.

Parámetro		Estimación	Error Std de la Estimación	T para H_0 : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT		2'8202	0'0745	37'85	0'E+00
NROAREAS	5	1'1603	0'2308	5'03	8'E-07
	4	0'8247	0'1465	5'63	4'E-08
	3	0'6223	0'1420	4'38	2'E-05
	2	0'0498	0'1477	0'34	0'7362
	1	0'0755	0'1239	0'61	0'5426
	0	0'0000	'	'	'

E. Concentración de Hemoglobina en Sangre Periférica (HB).

La concentración de hemoglobina en sangre (HB) se recogió en 356 pacientes de la muestra de exploración. La media es 135'38 -error estándar=1'04- y la desviación estándar 19'70 gr / litro. La comparación entre la media y la mediana (137'5) pone de manifiesto cierta asimetría izquierda de la distribución, que se puede apreciar en el histograma de la **Figura 12**.

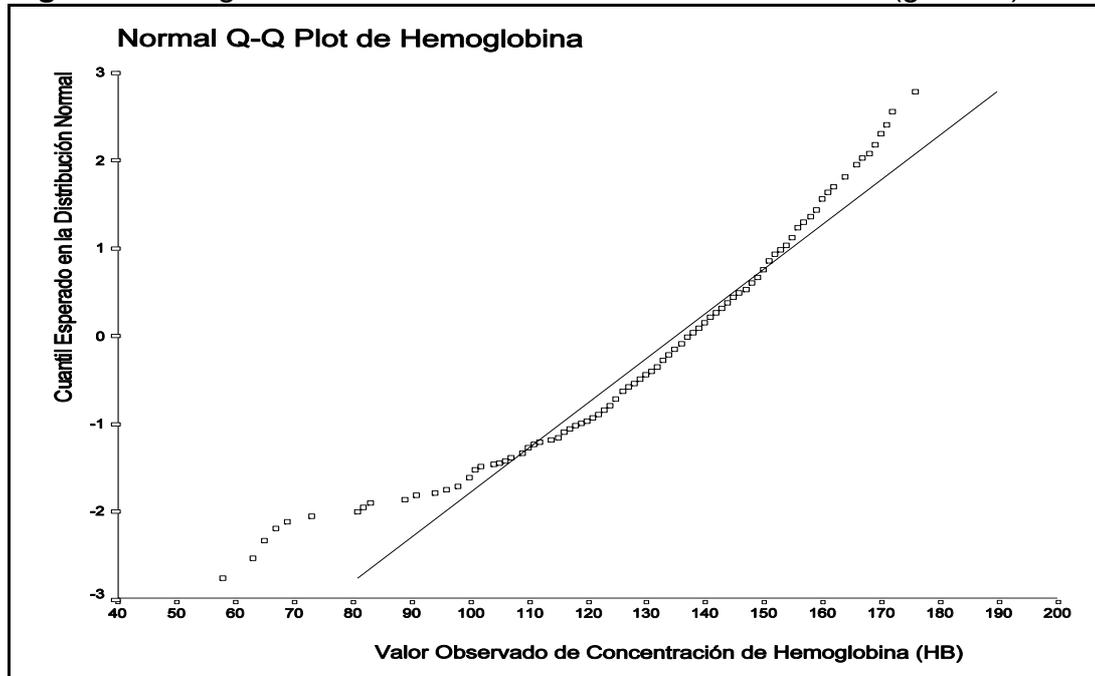
Figura 12. Histograma de HB y curva Normal con la misma Media y Varianza.



El test de Shapiro y Wilk (1965) rechaza la hipótesis de normalidad de la distribución de HB ($p < 0'0001$). El diagrama de normalidad (Q-Q Plot) -**Figura 13**- permite observar que la muestra se separa de la distribución normal esperada, prácticamente por debajo de 100 y por encima de 160 que corresponden a los percentiles 5 y 95%. El ajuste mejora si excluimos a los

pacientes que presentan estos valores extremos. El 50% de los pacientes presentan concentraciones de hemoglobina entre 126 y 149 que son los percentiles 25% y 75% respectivamente.

Figura 13. Diagrama de Normalidad de la Distribución de HB (gr / litro).



En la **Tabla 26** se presenta la distribución de frecuencias de la variable HB según el sexo y según el estadio pronóstico de los pacientes. La categorización de HB se ha realizado de manera compatible con los valores de referencia “normales” ($\text{media} \pm 2$ desviaciones estándar), publicados periódicamente por el New England Journal of Medicine (Anónimo 1986), y otros límites utilizados en las diferentes clasificaciones pronóstico para la LLC. Es posible apreciar diferencias en la distribución de HB tanto por sexo como por estadio pronóstico. El máximo de frecuencia entre los hombres se observa en la clase de concentración de hemoglobina en el intervalo [140 - 150[,

mientras en las mujeres la frecuencia más alta está en el intervalo [130 - 140[. Las diferencias por estadio pronóstico son obvias, debido a que una concentración de hemoglobina por debajo de 100 es criterio suficiente para clasificar a los pacientes en el estadio C. El máximo de frecuencia para los estadios A y B se encuentra en el intervalo [130 - 140[, pero es mayor la frecuencia de pacientes en estadio B con valores de HB inferiores a 130.

Tabla 26. Distribución de HB según Sexo, según Estadio Pronóstico y Total.

	Sexo		Estadio Pronóstico			Total	
	Hombres	Mujeres	A	B	C	N	%
	%	%	%	%	%		
Hemoglobina (gr/litro)							
<100	5'4	2'3	0'0	0'0	65'2	15	4'2
[100-110[4'9	5'3	2'5	12'0	4'3	18	5'1
[110-120[5'4	9'2	3'3	15'2	8'7	24	6'7
[120-130[9'9	25'2	14'9	18'5	8'7	55	15'4
[130-140[15'7	35'1	26'1	19'6	4'3	82	23'0
[140-150[24'7	14'5	24'9	15'2	0'0	74	20'8
[150-160[23'8	7'6	21'2	12'0	8'7	64	18'0
>=160	10'3	0'8	7'1	7'6	0'0	24	6'7
Total	100'0	100'0	100'0	100'0	100'0	356	100'0

En la **Tabla 27** se presentan algunas medidas de localización y dispersión de la distribución de HB según el sexo, la edad, el estadio pronóstico y el número de áreas afectadas. Representaciones gráficas pueden verse en las **Figuras 14 a 19**. En cada caso se ha realizado un análisis de varianza para contrastar la homogeneidad de los efectos de estas variables en la distribución de HB.

Tabla 27. Medidas de Localización y dispersión de HB según el Sexo, la Edad, el Estadio Pronóstico y el Número de Áreas afectadas (NROAREAS).

Concentración de Hemoglobina en Sangre (HB)							
	N	Media	Desviación Std	Err Std de la Media	Percentil 25%	Mediana	Percentil 75%
Sexo							
Hombres	223	138	21	1	129	143	152
Mujeres	131	130	16	1	125	132	139
Edad (años)							
<45	10	128	30	9	132	140	143
[45-50[18	144	12	3	139	146	155
[50-55[27	130	26	5	116	134	150
[55-60[35	144	18	3	134	149	155
[60-65[65	134	19	2	126	135	145
[65-70[56	139	15	2	129	142	149
[70-75[78	136	19	2	126	138	149
[75-80[51	129	20	3	119	132	143
>=80	10	137	17	5	126	141	152
Estadio							
A	241	140	14	1	132	141	150
B	92	132	18	2	119	134	147
C	23	96	29	6	69	91	115
NROAREAS							
0	129	140	15	1	132	142	150
1	73	141	13	2	132	140	153
2	45	133	23	3	126	136	147
3	48	135	19	3	121	134	150
4	45	120	24	4	105	125	136
5	15	121	29	8	102	126	148

1. Efecto del Sexo.

La diferencia en la distribución de la concentración de hemoglobina por sexo se conoce desde hace tiempo. Si tomamos los valores de referencia publicados por el New England Journal of Medicine (Anónimo 1986), la concentración de hemoglobina considerada "normal" entre los hombres es de 130 a 180 gr / litro, mientras que dichos valores son de 120 a 160 para la población de mujeres.

En los pacientes de LLC de la muestra de exploración también se observan diferencias en la distribución de HB según el sexo (**Tabla 26** y **Tabla 27**). El 25'6% de los hombres tienen valores de HB por debajo de 130 -límite inferior del intervalo de referencia-, presentando el resto concentraciones normales. Entre las mujeres, sólo el 16'8% tienen concentraciones por debajo del límite inferior del intervalo de referencia "normal". Los histogramas de la **Figura 14** y **Figura 15** ofrecen una aproximación a la forma de la distribución y permiten comprobar la existencia de "mesetas", entre los valores [120 - 135] para los hombres y [115 - 125] para las mujeres; estas mesetas podrían ser consecuencia de la mezcla en esas zonas de dos poblaciones diferentes. El test de Shapiro y Wilk (1965) rechaza, para cada sexo, la hipótesis de normalidad de la distribución ($p < 0'0001$); en el caso de las mujeres, prescindiendo de los valores extremos menores de 100 el mismo test no resulta ya significativo ($p = 0'2968$).

Figura 14. Histograma de HB en Hombres y curva Normal con la misma Media y Varianza.

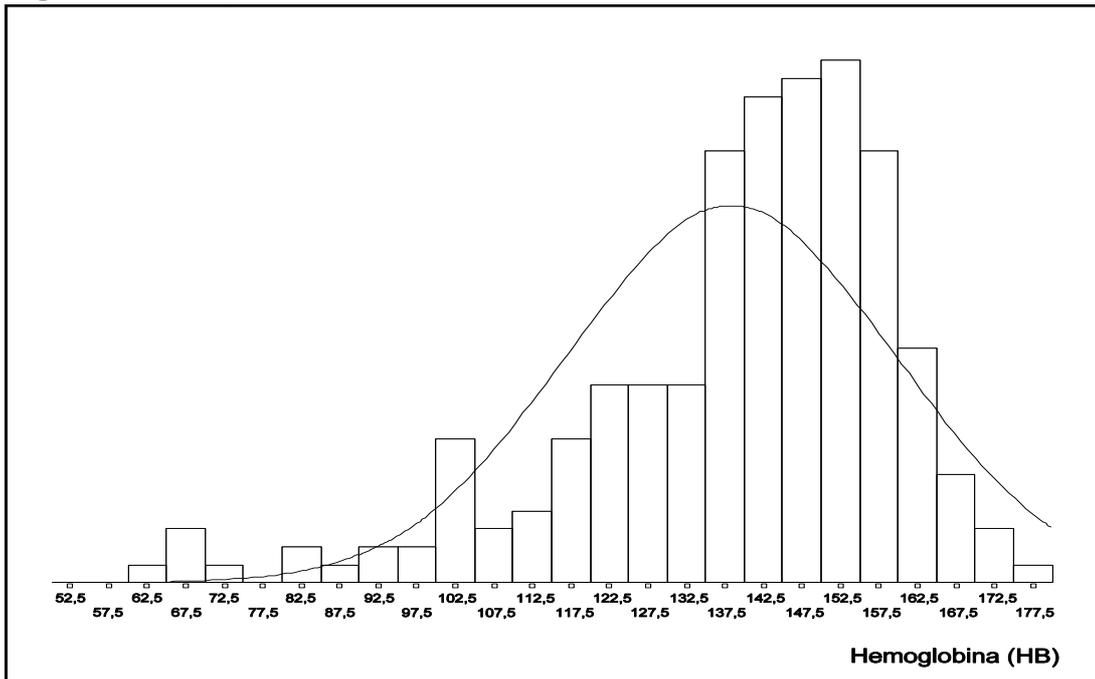
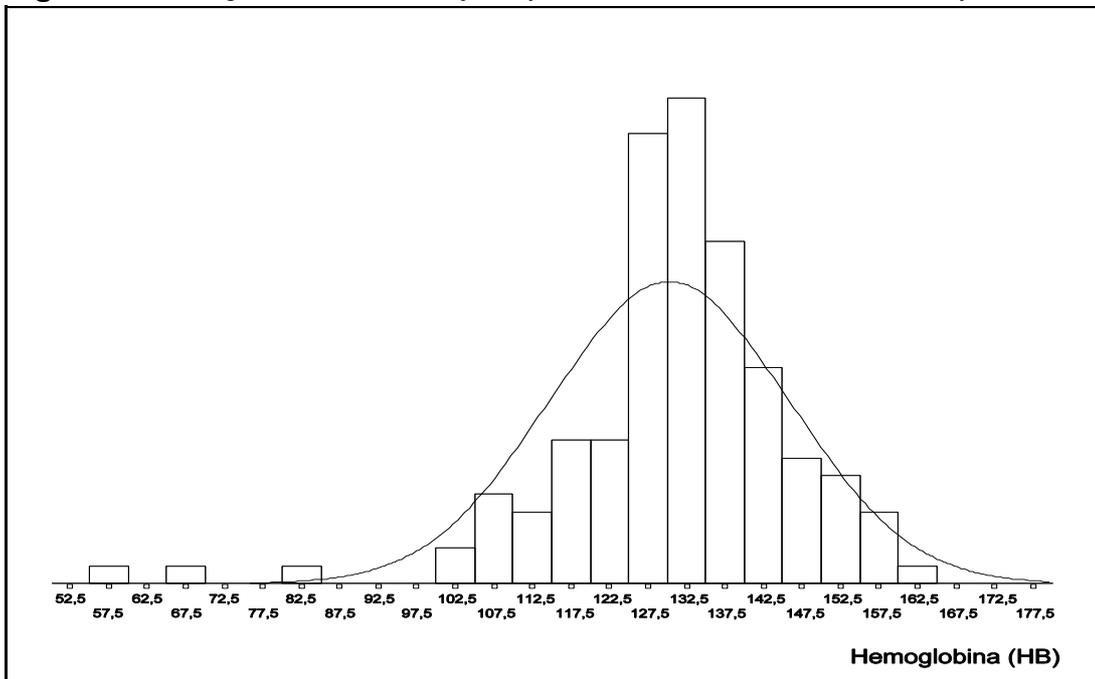


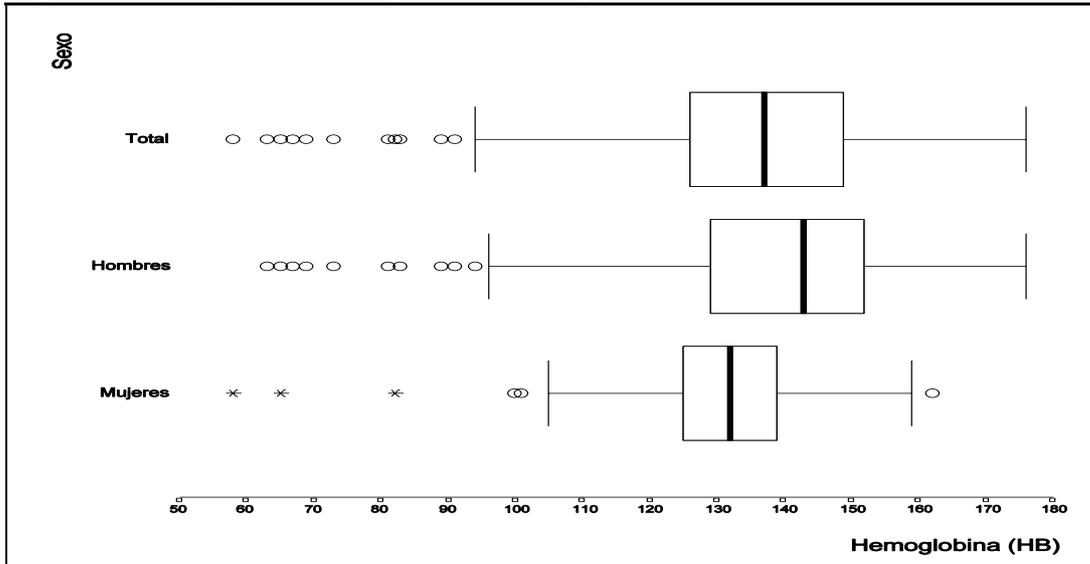
Figura 15. Histograma de HB en Mujeres y curva Normal con la misma Media y Varianza.



La diferencia entre los sexos de la distribución de la concentración de HB puede también apreciarse en el diagrama de cajas de la **Figura 16**. El

contraste de igualdad de varianzas en ambas poblaciones es significativo ($p=0'0001$). La diferencia de medias entre hombres y mujeres es significativa, utilizando el test con varianzas distintas ($p=0'0001$). Los resultados se mantienen cuando consideramos la transformación logarítmica de HB.

Figura 16. Diagrama de cajas de HB según el sexo.

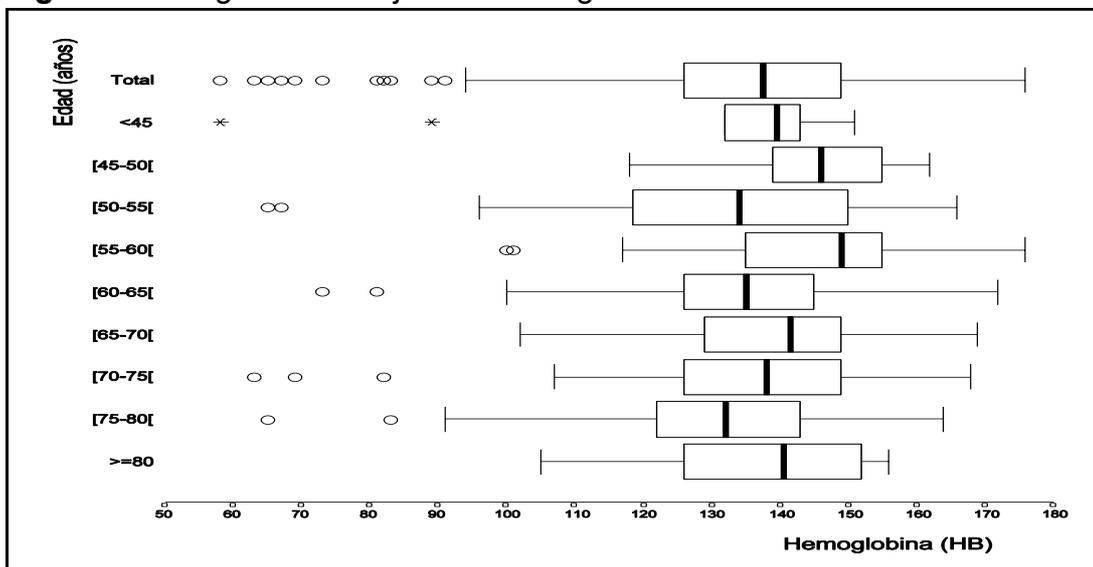


2. Efecto de la Edad.

La **Figura 17** permite apreciar las diferencias que existen en la distribución de la concentración de hemoglobina según la edad -9 clases- de los pacientes. Los datos recogidos no permiten rechazar la normalidad de la distribución de HB en ningún intervalo de edad ($\alpha=0'10$), excepto en la población con edad menor de 45 años ($p=0'0300$). El test de Levene no rechaza la igualdad de varianzas en las diferentes poblaciones de edad ($p=0'0934$). Sin embargo, la distribución de HB según la edad no es homogénea, ya que los efectos correspondientes al modelo de análisis de

varianza que incluye las 9 clases de edad recogidas en la **Figura 17** son significativamente diferentes ($p=0'0046$). También se rechaza la homogeneidad cuando realizamos el test ajustado por la variable sexo ($p=0'0060$), previa comprobación de que no existe interacción entre sexo y edad ($p=0'5665$). Esto significa que las diferencias en la distribución de HB, entre los grupos de edad, no deben atribuirse a una proporción diferente de hombres y mujeres en esos grupos.

Figura 17. Diagrama de cajas de HB según la edad.



La **Tabla 28** presenta las estimaciones del modelo de análisis de varianza que incluye las variables sexo y edad como factores explicativos de HB. A pesar de no existir una tendencia clara, la concentración de hemoglobina de los pacientes con edad menor de 45 años es significativamente diferente de la que presentan los individuos con edad comprendida en el intervalo de [45 - 50[y de [55 - 60[, siendo esta última la diferencia más significativa.

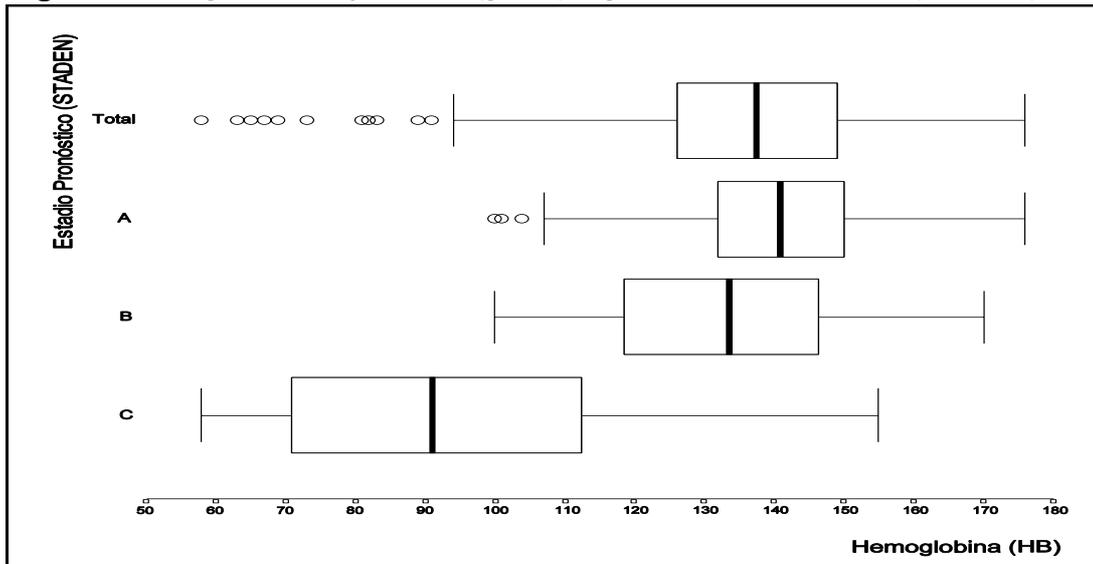
Tabla 28. Estimación y Contraste de los Efectos de la Edad en HB ajustados por Sexo.

Parámetro		Estimación	Error Std de la Estimación	T para H_0 : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT		129'3842	5'9914	21'59	0'E+00
SEXO	Hombre	7'9213	2'1285	3'72	0'0002
	Mujer	0'0000	'	'	'
EDAD	>=80	11'2763	8'4758	1'33	0'1843
	[75-80[2'3526	6'5441	0'36	0'7194
	[70-75[9'5982	6'3600	1'51	0'1322
	[65-70[12'5479	6'5108	1'93	0'0548
	[60-65[8'5166	6'4466	1'32	0'1874
	[55-60[16'1714	6'7765	2'39	0'0176
	[50-55[2'9228	7'0018	0'42	0'6766
	[45-50[17'2049	7'4556	2'31	0'0216
	<45	0'0000	'	'	'

3. Efecto del Estadio Pronóstico.

El diagrama de cajas de la **Figura 18**, la **Tabla 26** y la **Tabla 27** permiten apreciar las diferencias existentes en la distribución de HB según el estadio pronóstico. El contraste del ajuste a la normal de la distribución de HB no es significativo en ninguno de los tres estadios pronóstico ($\alpha=0'2000$). El test de Levene (1960) rechaza la igualdad de la varianza de HB en cada estadio pronóstico ($p<0'0001$). Como era de esperar, la concentración de hemoglobina se localiza en niveles más bajos en los pacientes del estadio C, ya que se utiliza en la definición de este último. Además, la variabilidad de HB es mayor en dicho estadio (C).

Figura 18. Diagrama de cajas de HB (gr/litro) según el Estadio Pronóstico (STADEN).



En la **Tabla 29** se pueden observar las estimaciones de los efectos del modelo de análisis de varianza que incluye sexo y STADEN como factores explicativos de HB, así como el contraste de igualdad entre cada efecto y el de la clase de referencia. Aunque existe heterocedasticidad, no tomada en cuenta en el modelo, los resultados sugieren que las diferencias en la distribución de hemoglobina según STADEN no deben atribuirse a la existencia de un número diferente de hombres y mujeres en cada estadio pronóstico.

Tabla 29. Estimación y Contraste de los Efectos de STADEN en HB ajustados por Sexo.

Parámetro		Estimación	Error Std de la Estimación	T para H_0 : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT		133'7800	1'4198	94'22	0'E+00
SEXO	Hombre	11'1955	1'7131	6'54	2'E-10
	Mujer	0'0000	'	'	'
STADEN	C	-47'3328	3'3898	-13'96	2'E-35
	B	-9'3052	1'8984	-4'90	1'E-06
	A	0'0000	'	'	'

4. Efecto del Número de Áreas afectadas.

La **Figura 19** y la **Tabla 27** permiten apreciar diferencias en la distribución de HB según el número de áreas afectadas (NROAREAS). El contraste del ajuste a la normal de dicha distribución sólo es significativo en la población de pacientes con dos áreas afectadas ($p < 0.0100$), en el resto de los niveles no se rechaza que HB sea normal ($\alpha = 0.10$). El test de Levene (1960) rechaza la hipótesis de igualdad de varianzas en las diferentes poblaciones que identifica NROAREAS ($p < 0.0001$). La desviación estándar es mayor en el grupo de pacientes que presentan cuatro o cinco áreas afectadas, aunque también es grande en el grupo con sólo dos. El rechazo de la normalidad y el aumento de la dispersión de la distribución en la población de individuos con dos áreas afectadas puede deberse a la existencia de algunos valores de HB bajos y muy extremos. La localización de la distribución de HB permite identificar tres grupos de pacientes según NROAREAS: ninguna o una, dos o tres y cuatro o cinco áreas afectadas. Dicha localización parece situarse en valores de HB más bajos a medida que se incrementa el número de áreas afectadas.

En la **Tabla 30** se presentan las estimaciones de los efectos del sexo y NROAREAS, en el modelo de análisis de varianza para explicar HB; Se incluyen también los resultados de los contrastes realizados, aunque la hipótesis de homogeneidad de varianzas no es aceptable. Una alternativa que tiene en cuenta la heterocedasticidad ha sido descrita recientemente por Weerahandi (1995).

Figura 19. Diagrama de cajas de HB (gr/litro) según Número de Áreas (NROAREAS).

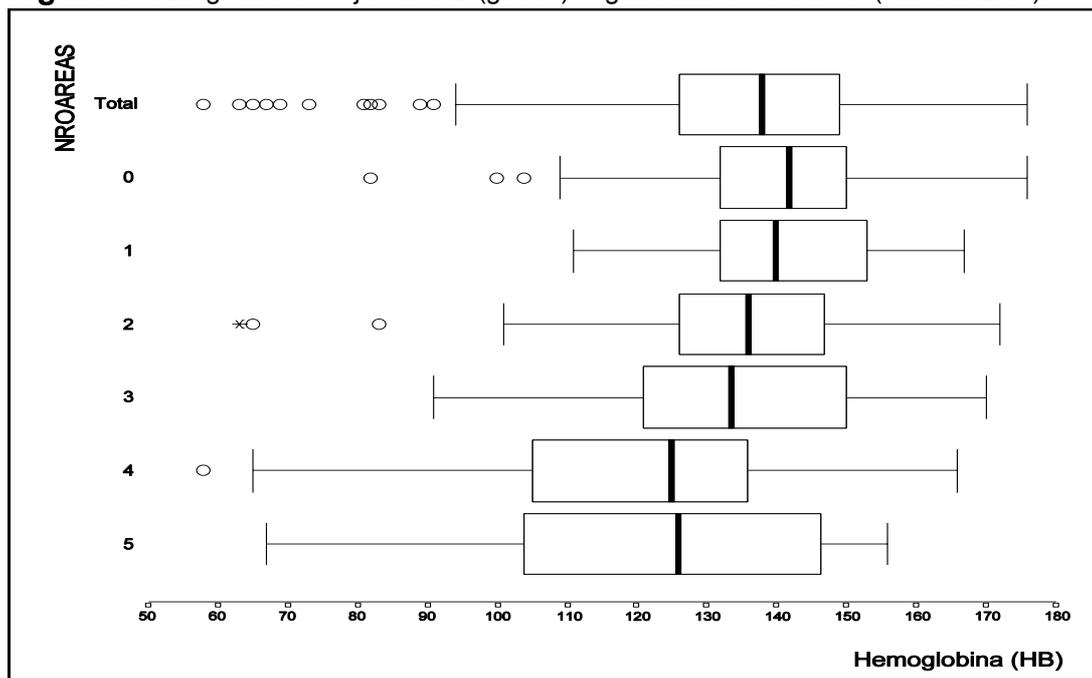


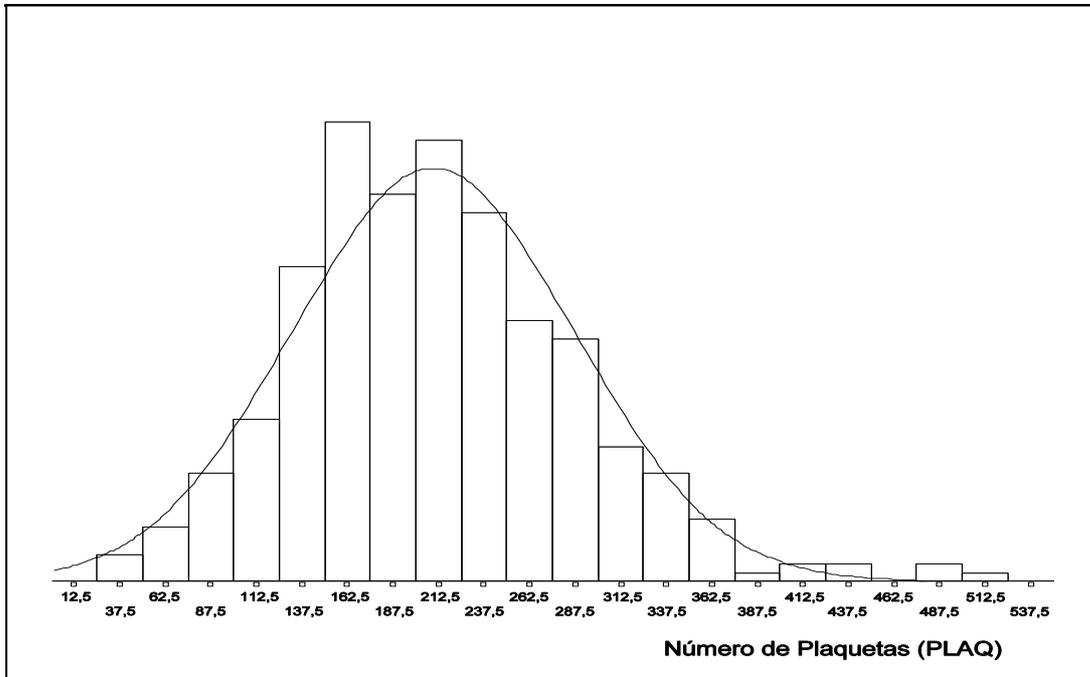
Tabla 30. Estimación y Contraste de los Efectos de NROAREAS en HB ajustados por Sexo.

Parámetro		Estimación	Error Std de la Estimación	T para H_0 : Parámetro=0	Prob> T
INTERCEPT		145'1808	1'8391	78'94	0'E+00
SEXO	Hombre	10'1664	1'9980	5'09	6'E-07
	Mujer	0'0000	'	'	'
NROAREAS	5	-20'4587	4'8667	-4'20	3'E-05
	4	-22'4772	3'1267	-7'19	4'E-12
	3	-7'1462	3'0265	-2'36	0'0188
	2	-8'3587	3'0889	-2'71	0'0071
	1	-1'3823	2'6483	-0'52	0'6020
	0	0'0000	'	'	'

F. Descripción del Número de Plaquetas en Sangre (PLAQ).

El número de plaquetas se recogió en 356 pacientes de la muestra de exploración. Su media es de 209'63 -error estándar de la media 4'10- y la desviación estándar $77'16 \times 10^9$ / litro. La comparación entre la media y la mediana (200) pone de manifiesto cierta asimetría derecha que puede apreciarse en la **Figura 20**.

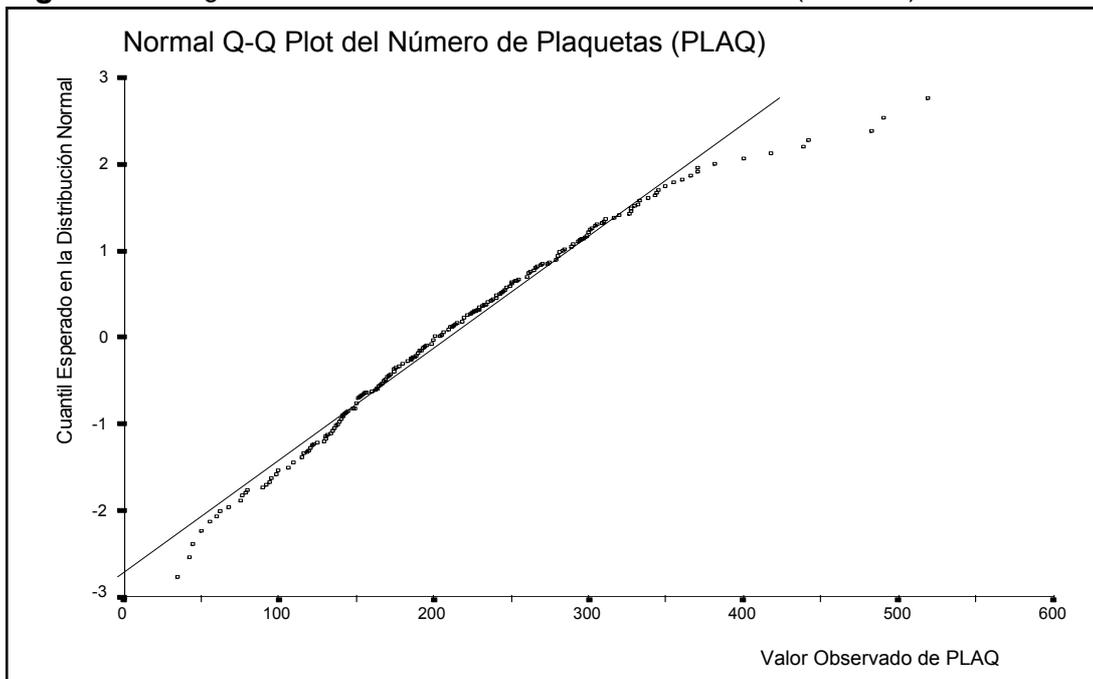
Figura 20. Histograma de PLAQ (10^9 /litro) y curva Normal con la misma Media y Varianza.



El test de Shapiro y Wilk (1965) rechaza la hipótesis de normalidad de la distribución ($p=0'0003$). El diagrama de la **Figura 21** (Q-Q Plot) pone de manifiesto que la distribución se separa de la normal en los valores extremos superiores a 350 o menores de 150, que son los límites del intervalo “normal” de referencia publicados por el “New England Journal of Medicine” (Anónimo 1986). El 20'8% de los pacientes tienen valores de PLAQ por debajo de 150, mientras que sólo el 4'2% superan el valor 350. Un 50% de los pacientes

presentan valores de PLAQ comprendidos entre 153'5 y 257'5, que son los percentiles 25% y 75% respectivamente.

Figura 21. Diagrama de Normalidad de la Distribución de PLAQ (10^9 / litro).



En la **Tabla 31** se presenta la distribución de frecuencias del número de plaquetas según el sexo y según el estadio pronóstico de los pacientes. La categorización de PLAQ se ha construido considerando los valores de referencia “normales” y los límites utilizados en la clasificación pronóstico de Binet, de manera que fuese al mismo tiempo compatible con las utilizadas por otros autores (Chevret 1989). El porcentaje de hombres es siempre mayor en las clases por debajo de 150. Es interesante comprobar que ninguno de los

pacientes incluidos en el estadio pronóstico C supera el límite inferior del intervalo de referencia considerado clínicamente “normal” para las plaquetas (150). El máximo de frecuencia en los individuos del estadio B se encuentra en el intervalo [150 - 200[, mientras que dicho máximo está en el intervalo [200 - 250[para los individuos de A.

Tabla 31. Distribución de PLAQ según el Sexo, según el Estadio Pronóstico y Total.

	Sexo		Estadio Pronóstico			Total	
	Hombres	Mujeres	A	B	C		
	%	%	%	%	%	N	%
Plaquetas							
<100	7'7	3'0	0'0	0'0	87'5	21	5'9
[100 - 125[7'2	1'5	3'7	8'8	4'2	18	5'1
[125 - 150[12'2	6'1	9'1	13'2	4'2	35	9'8
[150 - 200[27'9	24'2	23'2	40'7	4'2	94	26'4
[200 - 250[22'1	30'3	29'9	19'8	0'0	90	25'3
[250 - 300[10'8	24'2	21'2	5'5	0'0	56	15'7
[300 - 350[7'2	7'6	7'9	8'8	0'0	27	7'6
>=350	5'0	3'0	5'0	3'3	0'0	15	4'2
Total	100'0	100'0	100'0	100'0	100'0	356	100'0

En la **Tabla 32** se presentan medidas de localización y dispersión de la variable PLAQ según el sexo, la edad, el estadio pronóstico y el número de áreas afectadas. Representaciones gráficas pueden verse en las **Figuras 22 a 25**. Se han realizado análisis de varianza para contrastar la homogeneidad de efectos de estas variables en la distribución de PLAQ.

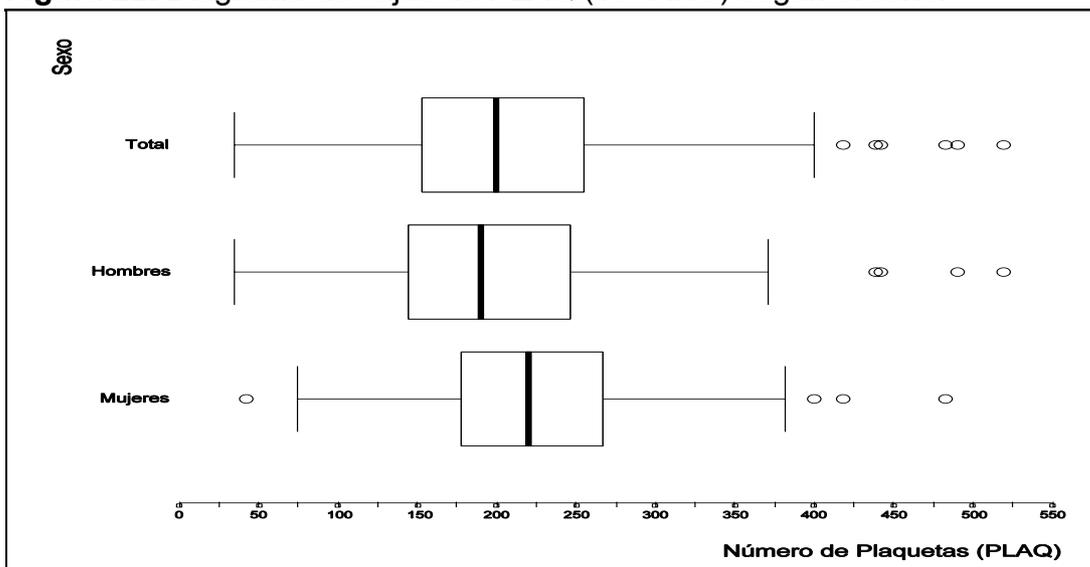
Tabla 32. Medidas de Localización y Dispersión de la distribución de PLAQ según el Sexo, la Edad, el Estadio Pronóstico y el Número de Áreas afectadas (NROAREAS).

		Número de Plaquetas en Sangre (PLAQ)						
		N	Media	Desviación Std	Err Std de la Media	Percentil 25%	Mediana	Percentil 75%
Sexo								
Hombres		222	201	81	5	145	190	246
Mujeres		132	224	69	6	178	220	267
Edad (años)								
<45		10	217	89	28	150	245	269
[45-50[18	220	58	14	165	218	260
[50-55[27	208	79	15	150	220	269
[55-60[36	220	90	15	155	203	248
[60-65[65	219	71	9	165	220	270
[65-70[55	229	97	13	167	225	279
[70-75[78	205	72	8	156	195	240
[75-80[51	180	60	8	134	183	215
>=80		10	184	47	15	145	169	200
Estadio								
A		241	226	69	4	175	220	267
B		91	200	72	8	150	180	230
C		24	80	29	6	58	78	95
NROAREAS								
0		129	221	74	7	175	211	260
1		73	220	69	8	153	220	281
2		45	228	76	11	180	230	275
3		49	202	77	11	150	188	240
4		44	171	77	12	138	160	190
5		15	143	82	21	79	125	172

1. Efecto del Sexo.

La **Figura 22** permite comparar la distribución de PLAQ según el sexo en la muestra de exploración. La varianza de PLAQ en los hombres no resulta significativamente diferente de la varianza en la población de mujeres ($p=0'0549$), aunque se encuentra en el límite. El contraste de la media de PLAQ en ambas poblaciones es significativo, considerando varianzas iguales ($p=0'0059$) o distintas ($p=0'0043$). La distribución para los hombres se localiza en tramos más bajos de la escala.

Figura 22. Diagrama de cajas de PLAQ (10^9 / litro) según el sexo.

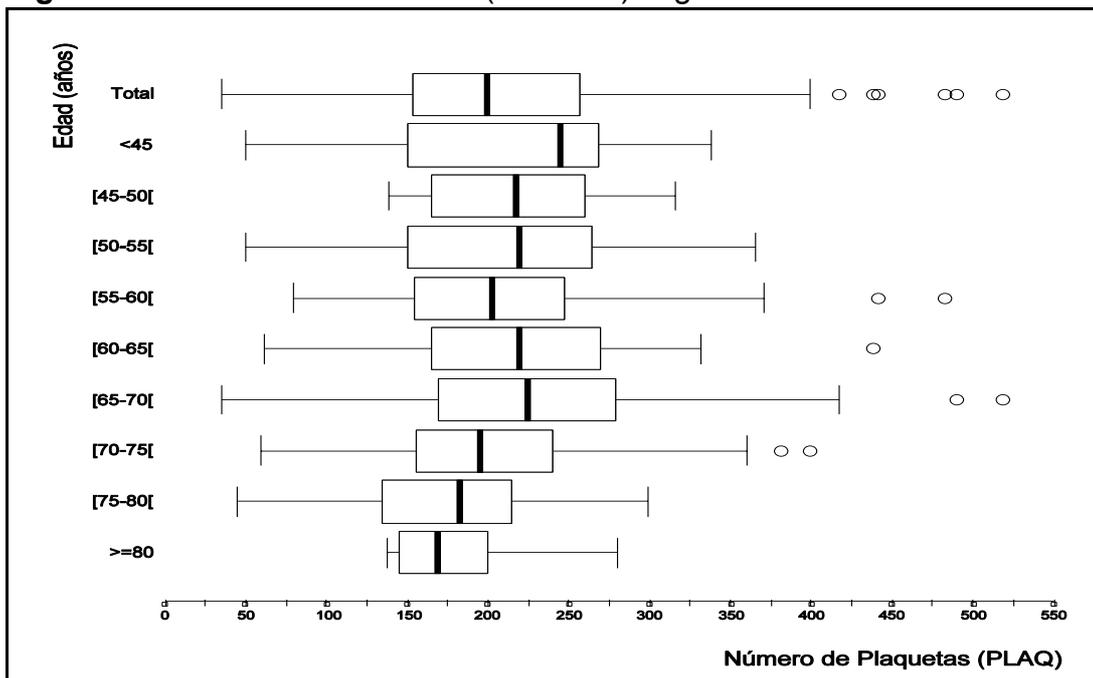


2. Efecto de la Edad.

En la **Figura 23** se pueden ver las diferencias existentes en la distribución de PLAQ en los diferentes intervalos de edad. En las clases con edad menor de 70 años las diferencias no son muy grandes, aunque llama la

atención la mediana de la clase de menos de 45 años; en los intervalos de edad superior es posible apreciar la tendencia de la distribución a localizarse en valores más bajos de la escala. Estudiamos la homogeneidad de la distribución de PLAQ en diferentes niveles de edad. Su distribución se ajusta a la normal -test de Shapiro y Wilk (1965)- en todos los niveles ($\alpha=0'10$).

Figura 23. Distribución de PLAQ (10^9 / litro) según la Edad.



Además, el test de Levene (1960) no permite descartar la igualdad de varianzas ($p=0'0915$) y los efectos del modelo ANOVA (**Tabla 33**) no resultan estadísticamente diferentes ($p=0'0699$). Sin embargo, el nivel de significación, al contrastar los efectos, está muy próximo al valor de α ($0'05$), por lo cual realizamos diferentes contrastes sobre dichos efectos basándonos en el mismo modelo. El haber cumplido 75 años o más resulta significativamente diferente de tener una edad menor ($p=0'0010$). El resto de los contrastes no fueron significativos ($\alpha=0'05$).

Tabla 33. Estimación y Contraste de los efectos de Edad en PLAQ.

Parámetro	Estimación	Error Std de la Estimación	T para H_0 : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT	217'0000	24'2485	8'95	2'E-17
EDAD >=80	-32'9000	34'2926	-0'96	0'3380
[75-80[-37'1960	26'5195	-1'40	0'1616
[70-75[-11'7564	25'7560	-0'46	0'6484
[65-70[11'8363	26'3609	0'45	0'6537
[60-65[2'3538	26'0471	0'09	0'9280
[55-60[2'8888	27'4102	0'11	0'9161
[50-55[-9'4444	28'3860	-0'33	0'7396
[45-50[3'2777	30'2432	0'11	0'9138
<45	0'0000	'	'	'

3. Efecto del Estadio Pronóstico.

En la **Figura 24** y en la **Tabla 32** se puede comparar la distribución de PLAQ en cada estadio pronóstico (A, B, C). Lógicamente, existe una diferencia importante en el número de plaquetas de los pacientes incluidos en el estadio C cuando los comparamos con los pacientes en estadio A o B. Pero también existe una diferencia importante entre los dos últimos. El test de Shapiro Wilk (1965) rechaza la hipótesis de normalidad de la distribución en los estadios A ($p < 0'0734$) y B ($p < 0'0001$), pero no así en el C ($p = 0'3361$).

El test de Levene (1960) rechaza la homogeneidad de la varianza según STADEN ($p = 0'0029$). El grupo de pacientes en estadio C presenta una dispersión menor. En la **Tabla 34** se pueden ver las estimaciones de los

efectos correspondientes al modelo de análisis de varianza para explicar PLAQ en función de STADEN; también se presentan los resultados de los contrastes, aunque no es aceptable la suposición de homocedasticidad. Una alternativa es la realización de los contrastes descritos recientemente por Weerahandi (1995).

Figura 24. Diagrama de cajas de PLAQ (10^9 /litro) según el Estadio Pronóstico (STADEN).

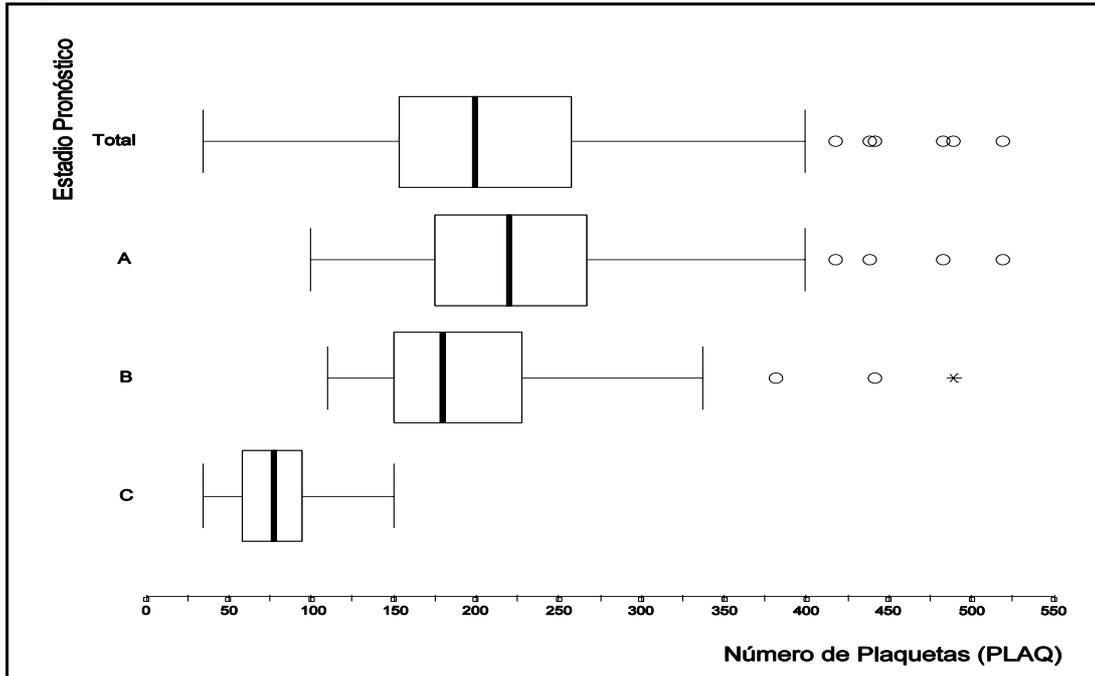


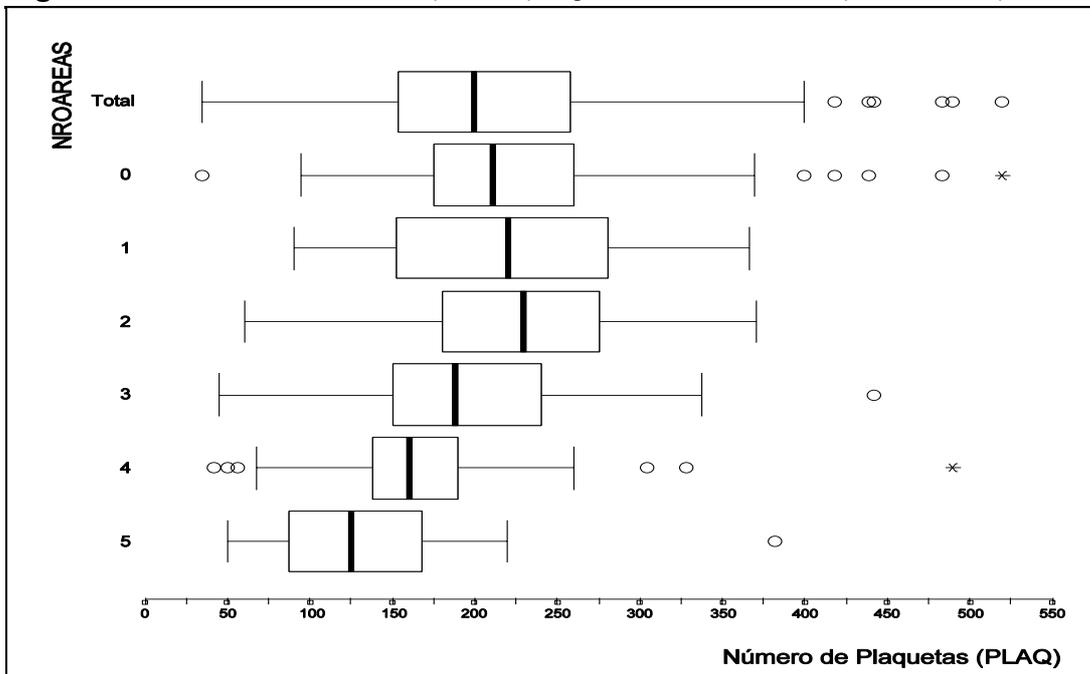
Tabla 34. Estimación y Contraste de los efectos del Estadio (STADEN) en PLAQ.

Parámetro		Estimación	Error Std de la Estimación	T para H_0 : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT		226'1535	4'3942	51'47	0'E+00
STADEN	C	-145'9868	14'6016	-10'00	7'E-21
	B	-26'1315	8'3933	-3'11	0'0020
	A	0'0000	'	'	'

4. Efecto del Número de Áreas afectadas.

El diagrama de cajas de la **Figura 25** nos permite apreciar las diferencias en la distribución según el número de áreas afectadas (NROAREAS). No existe mucha diferencia en la localización y dispersión de la distribución de PLAQ en los pacientes con 0, 1 ó 2 áreas afectadas, pero la distribución se localiza en valores más bajos de la escala a medida que NROAREAS aumenta por encima del valor 2. Esto significa que el número de plaquetas de los pacientes en la muestra de exploración tiende a disminuir a medida que aumenta el número total de áreas afectadas por encima de 2, aunque el efecto pudiera estar confundido por otros factores.

Figura 25. Distribución de PLAQ (10^9 /litro) según Número de Áreas (NROAREAS).



El test de Shapiro y Wilk (1965) rechaza la normalidad de la distribución de PLAQ en las poblaciones con NROAREAS igual a 0 ($p \leq 0'0530$), 1 ($p \leq 0'0163$) y 4 ($p = 0'0050$). En el resto de poblaciones no se rechaza la hipótesis de normalidad de la distribución de PLAQ ($\alpha = 0'10$).

La hipótesis de homogeneidad de la varianza de PLAQ en las poblaciones definidas por NROAREAS no se rechaza con el test de Levene ($p = 0'9703$). El análisis de varianza permite sin embargo rechazar la igualdad de todos los efectos de NROAREAS ($p = 1 \times 10^{-5}$). En la **Tabla 35** se encuentran las estimaciones y contrastes de cada efecto con el de la clase de referencia -NROAREAS=0-.

Tabla 35. Estimación y Contraste de los efectos de NROAREAS en PLAQ.

Parámetro		Estimación	Error Std de la Estimación	T para H_0 : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT		220'9922	6'5730	33'62	0'E+00
NROAREAS	5	-78'3255	20'3658	-3'85	0'0001
	4	-49'5377	13'0335	-3'80	0'0002
	3	-18'6861	12'5279	-1'49	0'1367
	2	7'2299	12'9251	0'56	0'5763
	1	-1'0744	10'9340	-0'10	0'9218
	0	0'0000	'	'	'

Basándonos en este modelo realizamos diferentes contrastes de hipótesis sobre los efectos. No existen diferencias significativas entre tener afectadas 3 áreas o menos. Tampoco es significativa la diferencia entre presentar 4 o 5 áreas afectadas ($p = 0'1980$). Sin embargo, resulta significativa la diferencia de

tener afectadas 3 áreas y tener afectadas 4 o más ($p=0'0036$); la diferencia entre tener afectadas tres áreas o menos y 4 áreas o más es muy significativa ($p=8 \times 10^{-7}$).

II. ESTUDIO MULTIVARIANTE DE LA ASOCIACIÓN.

En el apartado I se han puesto de manifiesto diferencias en la distribución de LOGNLYMP, HB y PLAQ según los niveles de: sexo, edad, número de áreas afectadas (NROAREAS) y estadio pronóstico (STADEN). Centraremos ahora nuestra atención en la explicación de esas mismas variables en función de los tres primeros factores, utilizando modelos multivariantes de análisis de varianza (MANOVA), implementados con el procedimiento GLM de SAS. El estadio pronóstico -STADEN- se define en función de HB, PLAQ y NROAREAS y no se utilizará como variable explicativa en los modelos; sin embargo, dada su importancia clínica y pronóstica, identificaremos los grupos definidos por STADEN en las representaciones gráficas. El análisis se realizará considerando primero todos los pacientes de la muestra de exploración (estadios A, B y C); posteriormente nos centraremos en los pacientes clasificados en los estadios A y B.

Describiremos los resultados de los modelos MANOVA descomponiendo cada uno de ellos en tres submodelos ANOVA -uno para cada variable respuesta- con idénticos factores explicativos. Estudiaremos todas las interacciones de primer orden entre dichos factores, incluyéndolas en los modelos sólo cuando sean necesarias para explicar alguna de las variables respuesta. Los niveles de las interacciones de orden superior incluyen muy pocos pacientes, y las clases correspondientes resultan vacías en muchas ocasiones.

Para cada submodelo ANOVA se presentarán las estimaciones y los contrastes de igualdad entre efectos, estudiando la normalidad y homocedasticidad de los residuos mediante diagramas apropiados. Utilizaremos los tests MANOVA para buscar categorizaciones de los factores con significado **global** sobre las tres variables respuesta simultáneamente. Además, estudiaremos la correlación parcial entre las variables respuesta, completada con los diagramas de dispersión correspondientes.

A. Diagramas de Dispersión de LOGNLYMP, HB y PLAQ.

Los diagramas de dispersión (**Figura 26** y **Figura 27**) de HB y PLAQ frente a LOGNLYMP permiten apreciar un patrón similar. La concentración de hemoglobina y el número de plaquetas disminuyen cuando el valor de NLYMP está por encima de 80; la zona en que el número de linfocitos en sangre está entre 40 y 80 parece tener en ambos casos características de una zona de transición, o zona intermedia entre las dos extremas -en la que se observan muy pocos pacientes en el estadio C, como ya se señaló en la **Tabla 22**-. Sin embargo, se observa una diferencia en los pacientes del estadio C entre ambos diagramas: en ningún caso hay valores “normales” de plaquetas -superiores a 150×10^9 plaquetas / litro- mientras que si existen pacientes con valores normales de hemoglobina, particularmente si los linfocitos son inferiores a 80.

Figura 26. Dispersión de HB frente a LOGNLYMP, distinguiendo el Estadio (STADEN).

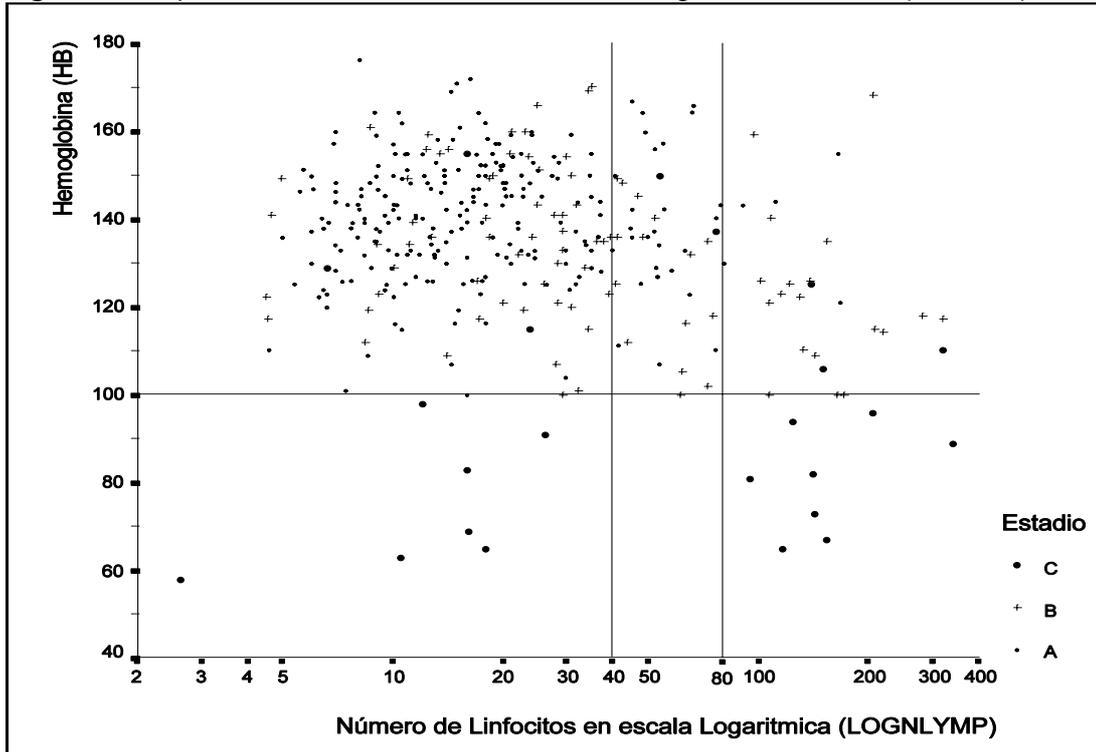
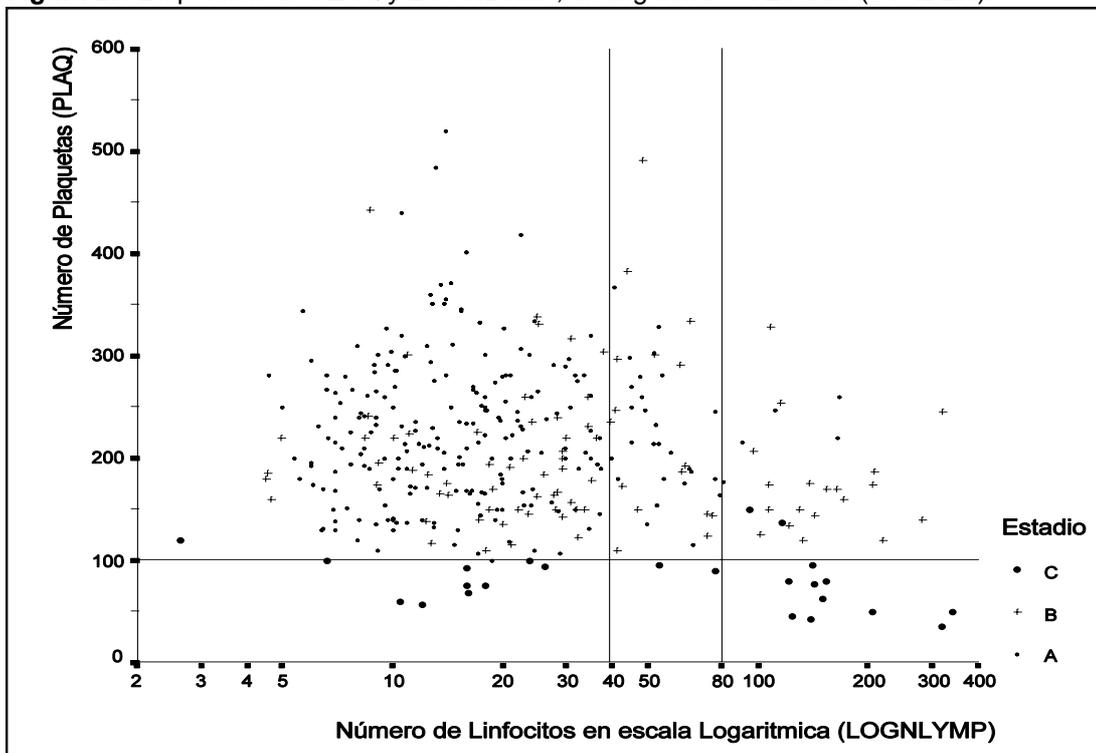
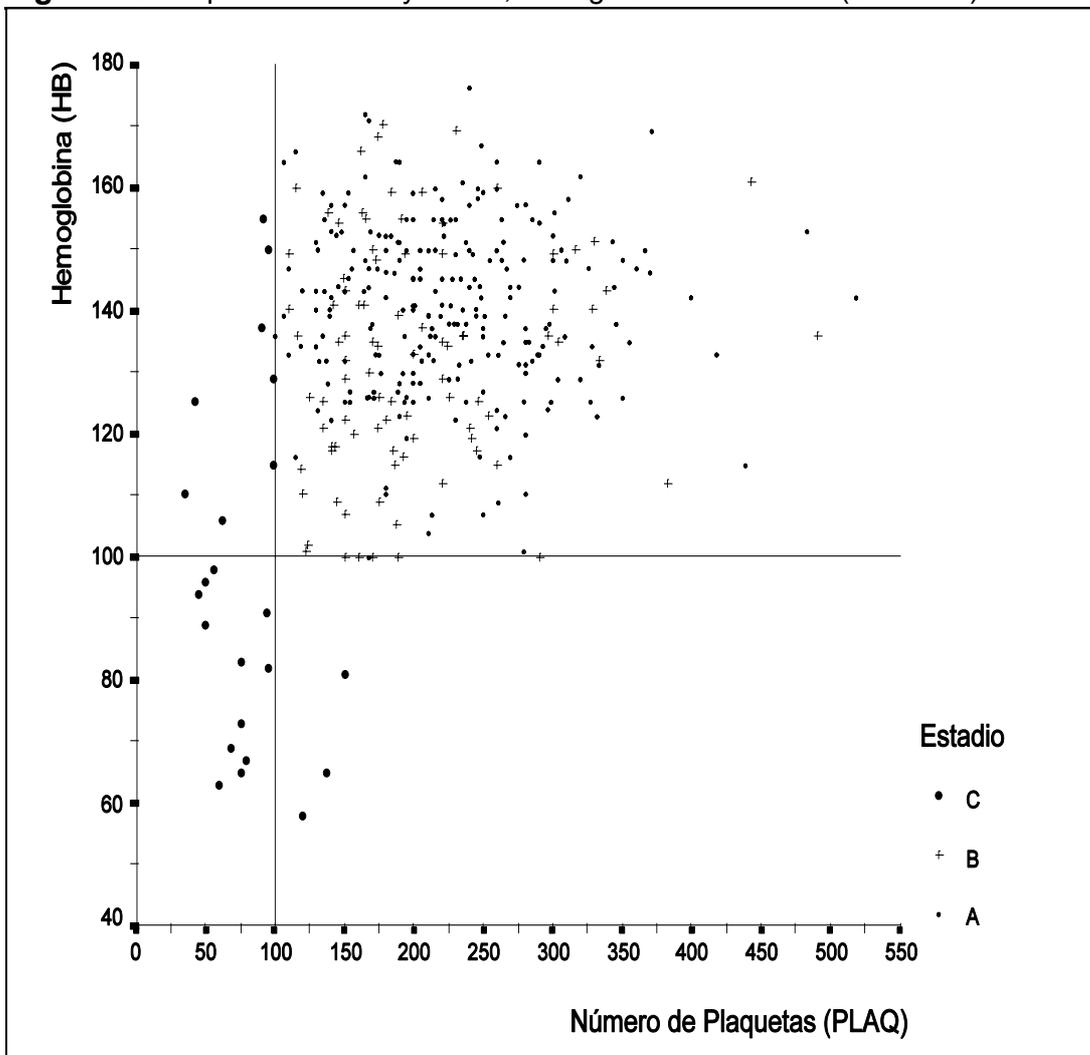


Figura 27. Dispersión de PLAQ y LOGNLYMP, distinguiendo el Estadio (STADEN).



El diagrama de dispersión (**Figura 28**) de la concentración de hemoglobina (HB) frente al recuento de plaquetas (PLAQ) permite apreciar como los valores de HB por debajo de 100 se presentan conjuntamente con valores bajos (no “normales”) de plaquetas; sin embargo la afirmación recíproca no es cierta. En el gráfico se señalan los límites a partir de los cuales se clasifica a los pacientes en el estadio C.

Figura 28. Dispersión de HB y PLAQ, distinguiendo el Estadio (STADEN).



B. Análisis de todos los pacientes (Estadios A, B y C).

1. MANOVA1: LOGNLYMP, HB y PLAQ en función de Sexo, Edad y NROAREAS.

El modelo MANOVA1 considera LOGNLYMP, HB y PLAQ como variables respuesta a explicar en función de los factores sexo, edad y número de áreas afectadas (NROAREAS). Utilizaremos los datos de todos los individuos (N=346) que presentan información completa sobre las variables respuesta y factores explicativos en la muestra de exploración. Los resultados de los tres submodelos ANOVA se exponen mediante una tabla y dos gráficos. En la tabla se recogen las estimaciones de los efectos, sus errores estándar y el resultado del test de hipótesis que contrasta la diferencia entre el efecto de cada nivel con el de la clase de referencia. Los gráficos pretenden evaluar las dos suposiciones principales del modelo: la normalidad (Q-Q PLOT) y la igualdad de varianzas -dispersión de los residuos respecto a la predicción-.

El modelo ANOVA1.1 para LOGNLYMP explica un 20% de la variabilidad de la respuesta (**Tabla 36**). El efecto del sexo es significativo y los hombres presentan en media valores más elevados de linfocitos que las mujeres. No se puede rechazar la hipótesis de que todos los efectos del factor edad sean iguales entre sí ($p=0.1291$), pero rechazamos la igualdad sobre los efectos de NROAREAS ($p=6 \times 10^{-10}$). No existen diferencias significativas entre el efecto de tener 0, una o dos áreas afectadas. Sin embargo, por encima de dos áreas las diferencias son significativas con respecto a la clase de referencia (NROAREAS=0). Las estimaciones de los efectos indican que el número de linfocitos es mayor a medida que se presentan más áreas afectadas.

El diagrama de cuantiles de la **Figura 29** indica desviación de la normalidad; la correlación entre los cuantiles esperados y observados en la muestra es de 0'99. El diagrama de dispersión del residuo studentizado (diferencia entre el valor observado y la predicción del modelo, dividida por su desviación estándar) respecto a la predicción de LOGNLYMP (**Figura 30**) nos permite distinguir la existencia de menor variabilidad a la izquierda de la predicción 3'25. El modelo en esa zona tiende a infraestimar el valor de la respuesta.

Tabla 36. Modelo ANOVA1.1: LOGNLYMP en función de Sexo, Edad y NROAREAS.

Parámetro		Estimación	Error Std de la Estimación	T para H ₀ : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT		2'5873	0'2850	9'08	1'E-17
SEXO	Hombre	0'2472	0'0944	2'62	0'0093
	Mujer	0'0000	'	'	'
EDAD	>=80	-0'0072	0'3751	-0'02	0'9845
	[75-80[0'1037	0'2899	0'36	0'7207
	[70-75[-0'0044	0'2826	-0'02	0'9875
	[65-70[0'0698	0'2882	0'24	0'8086
	[60-65[0'1773	0'2870	0'62	0'5372
	[55-60[-0'0653	0'2998	-0'22	0'8277
	[50-55[0'5605	0'3094	1'81	0'0710
	[45-50[-0'0607	0'3323	-0'18	0'8551
	<45	0'0000	'	'	'
NROAREAS	5	1'1404	0'2260	5'04	8'E-07
	4	0'7193	0'1504	4'78	3'E-06
	3	0'5772	0'1430	4'04	7'E-05
	2	0'0480	0'1448	0'33	0'7401
	1	0'0384	0'1244	0'31	0'7579
	0	0'0000	'	'	'

Figura 29. ANOVA1.1: Normalidad del Residuo (Modelo para LOGNLYMP).

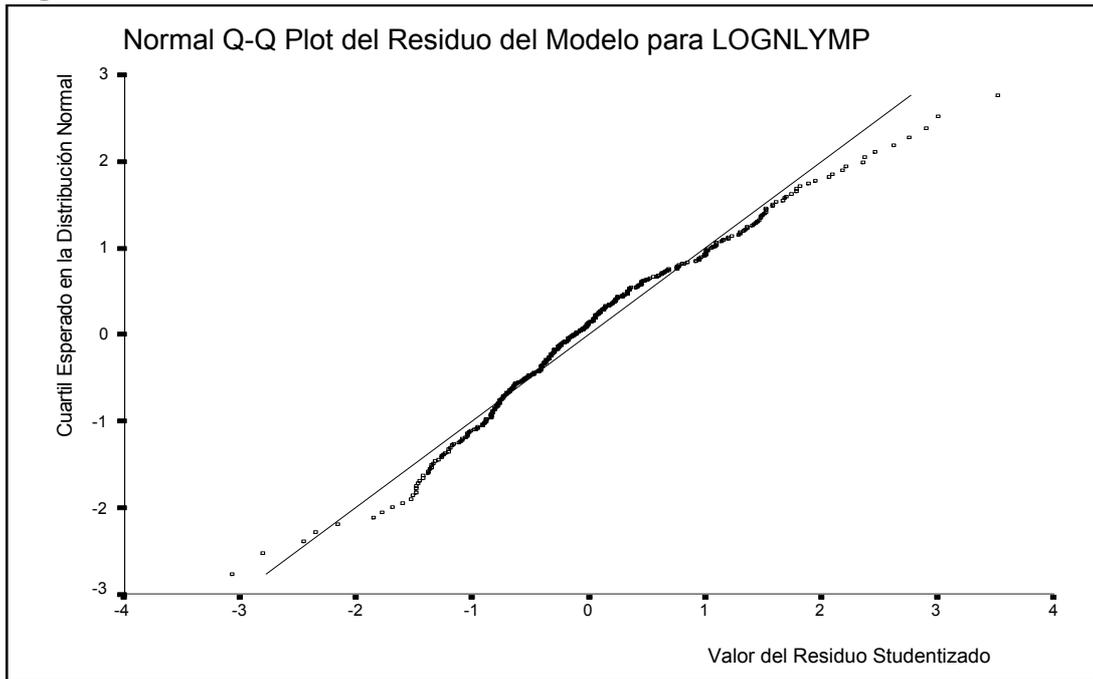
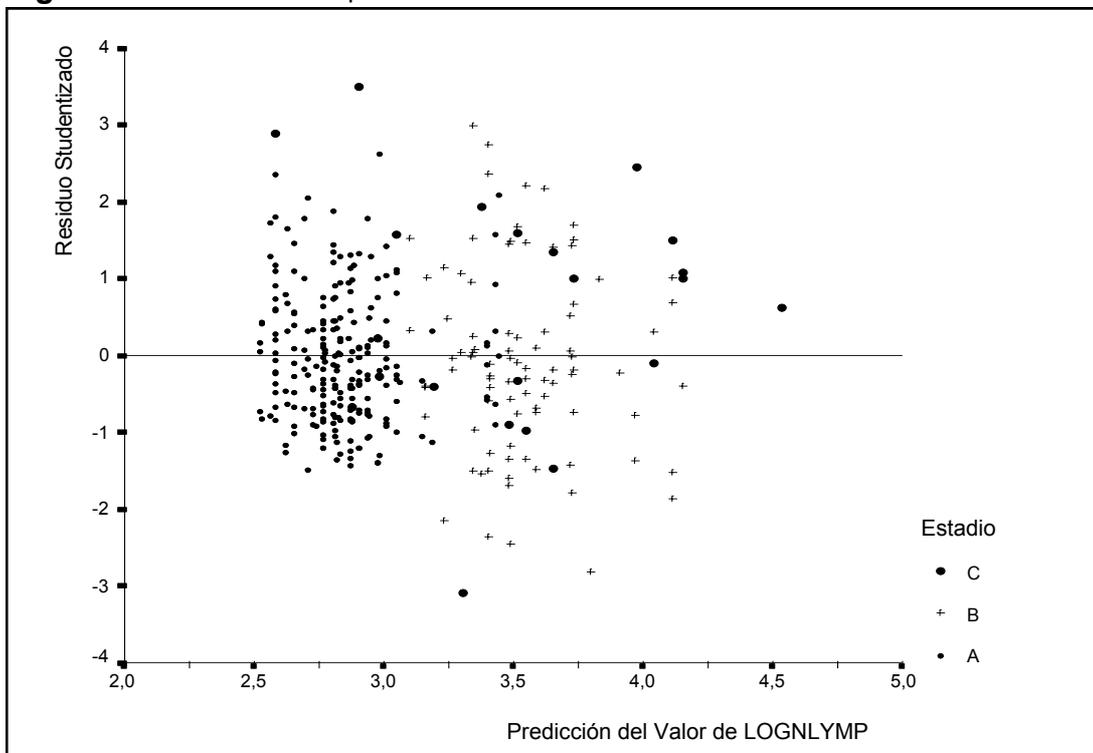


Figura 30. ANOVA1.1: Dispersión del Residuo frente a la Predicción de LOGNLYMP.



El modelo ANOVA1.2 explica el 25% de la variabilidad de HB a partir de los mismos factores -sexo, edad y NROAREAS- (**Tabla 37**). El efecto del sexo es significativo: los hombres presentan valores de HB que en media superan a los de las mujeres. El intervalo de confianza (al 95%) para la diferencia en la concentración de hemoglobina por sexo es de 6'18 a 14'04 gr/litro. A pesar de que ninguno de los efectos de la edad resulta significativamente diferente al de la clase de referencia -menores de 45 años- (dos están en el límite), se rechaza la hipótesis de que todos son iguales ($p=0'00039$). Los efectos de NROAREAS son muy diferentes entre sí ($p=10^{-11}$). No existe diferencia significativa entre tener 0 ó 1 área afectada, pero, a partir de 2, sí hay diferencias significativas con la clase de referencia (NROAREAS=0).

Tabla 37. Modelo ANOVA1.2: HB en función de Sexo, Edad y NROAREAS.

Parámetro	Estimación	Error Std de la Estimación	T para H_0 : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT	128'9261	6'0427	21'34	0'E+00
SEXO				
Hombre	10'1099	2'0030	5'05	7'E-07
Mujer	0'0000	'	'	'
EDAD				
>=80	10'2490	7'9531	1'29	0'1984
[75-80[-1'1131	6'1472	-0'18	0'8564
[70-75[6'0142	5'9914	1'00	0'3162
[65-70[9'9897	6'1104	1'63	0'1030
[60-65[5'1991	6'0852	0'85	0'3935
[55-60[12'4699	6'3569	1'96	0'0506
[50-55[1'0415	6'5607	0'16	0'8740
[45-50[13'6476	7'0459	1'94	0'0536
<45	0'0000	'	'	'
NROAREAS				
5	-20'5627	4'7930	-4'29	2'E-05
4	-22'3207	3'1899	-7'00	1'E-11
3	-6'6505	3'0323	-2'19	0'0290
2	-8'0026	3'0714	-2'61	0'0096
1	-1'0475	2'6384	-0'40	0'6916
0	0'0000	'	'	'

Las estimaciones muestran que la concentración de hemoglobina es menor si se tienen afectadas 2 ó 3 áreas, disminuyendo aún más, si están afectadas 4 ó 5 áreas. No existe diferencia significativa entre tener 2 ó 3 áreas afectadas; tampoco entre tener 4 ó 5.

En la **Figura 31** se presenta el diagrama de normalidad del residuo del modelo ANOVA1.2; la correlación entre los cuantiles observados y esperados es 0'97. El diagrama de dispersión del residuo del mismo modelo permite comprobar como, en el grupo de pacientes clasificados en el estadio C, la predicción sobreestima el verdadero valor de hemoglobina (**Figura 32**). Este problema tiene relación con la asimetría de la distribución de HB, que ya se puso de manifiesto en la descripción de esta variable. El ajuste del modelo mejoraría si consideramos a los pacientes clasificados en el estadio pronóstico C como un grupo diferente.

Figura 31. ANOVA1.2: Normalidad del Residuo (Modelo para HB).

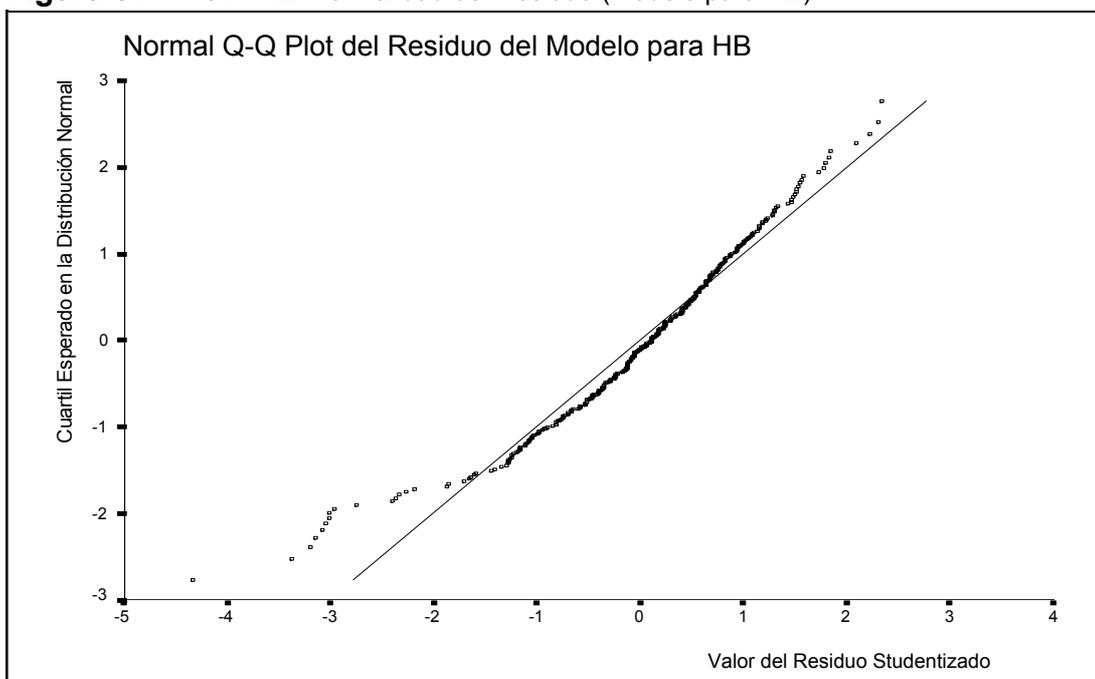
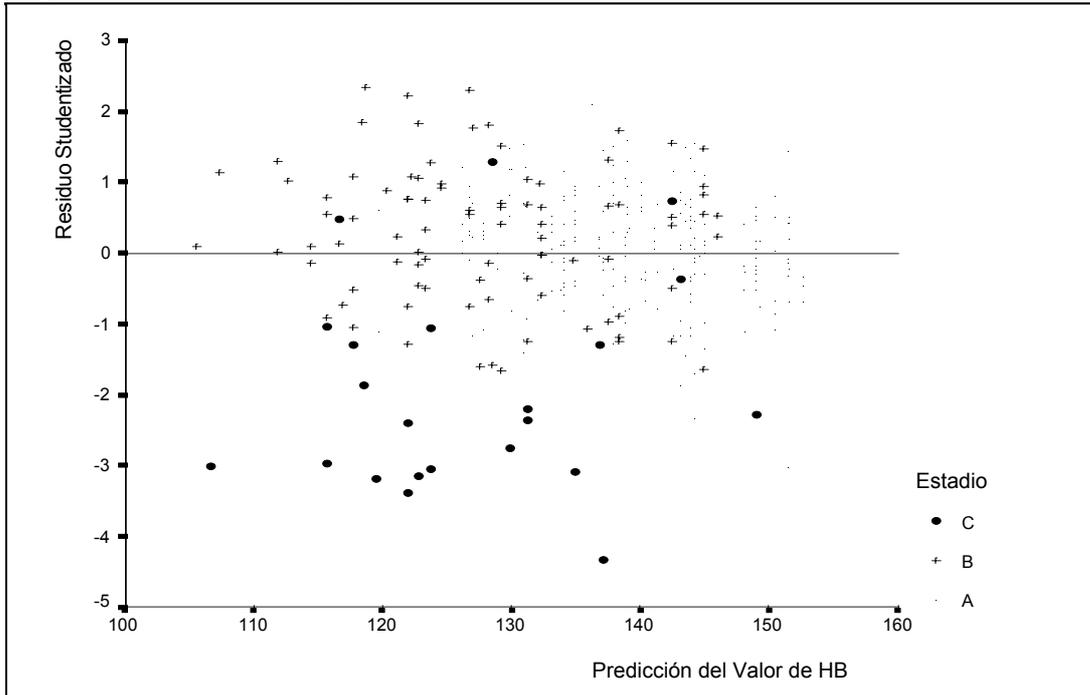


Figura 32. ANOVA1.2: Dispersión del Residuo frente a la Predicción de HB.



El modelo ANOVA1.3 explica el 14% de la variabilidad de PLAQ a partir de los factores sexo, edad y NROAREAS. Las estimaciones de los efectos de cada factor explicativo se exponen en la **Tabla 38**. Los hombres presentan valores medios de PLAQ significativamente diferentes a los que tienen las mujeres. Estos valores medios son más elevados en las mujeres. Se rechaza la hipótesis que considera iguales todos los efectos correspondientes a los niveles de edad ($p=0.0247$). La diferencia más fuerte se observa por encima de 75 años de edad, donde los niveles medios de plaquetas son más bajos. Tampoco son iguales entre sí los efectos del factor NROAREAS ($p=6 \times 10^{-5}$). Sus estimaciones indican que el número medio de plaquetas disminuye por debajo de los niveles de la clase de referencia, cuando se tienen 3 o más áreas afectadas, empezando dicha diferencia a ser significativa, cuando se tienen afectadas 4 ó 5 áreas.

En la **Figura 33** se presenta el diagrama de normalidad de los residuos del modelo ANOVA 1.3; la correlación entre los cuantiles observados y esperados es 0'98.

La dispersión de los residuos respecto a la predicción del modelo sugiere la existencia de un patrón de heterocedasticidad, con una varianza diferente por encima y por debajo del valor 200 de la predicción (**Figura 34**). Por otra parte, es importante resaltar que todos los individuos clasificados en el estadio C se encuentran en el gráfico por debajo de la línea de referencia -valor 0-, resultando las estimaciones del modelo por encima del valor observado realmente.

Tabla 38. Modelo ANOVA1.3: PLAQ en función de Sexo, Edad y NROAREAS.

Parámetro		Estimación	Error Std de la Estimación	T para H ₀ : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT		251'1400	25'4648	9'86	3'E-20
SEXO	Hombre	-21'5001	8'4410	-2'55	0'0113
	Mujer	0'0000	'	'	'
EDAD	>=80	-42'5202	33'5156	-1'27	0'2055
	[75-80[-51'4666	25'9055	-1'99	0'0478
	[70-75[-26'4520	25'2488	-1'05	0'2956
	[65-70[-0'3915	25'7502	-0'02	0'9879
	[60-65[-12'7603	25'6440	-0'50	0'6191
	[55-60[-4'1958	26'7890	-0'16	0'8756
	[50-55[-19'1395	27'6479	-0'69	0'4893
	[45-50[-7'0995	29'6925	-0'24	0'8112
	<45	0'0000	'	'	'
NROAREAS	5	-76'4406	20'1986	-3'78	0'0002
	4	-41'1347	13'4431	-3'06	0'0024
	3	-14'7425	12'7788	-1'15	0'2495
	2	10'9442	12'9434	0'85	0'3984
	1	5'0342	11'1186	0'45	0'6510
	0	0'0000	'	'	'

Figura 33. ANOVA1.3: Normalidad del Residuo (Modelo para PLAQ).

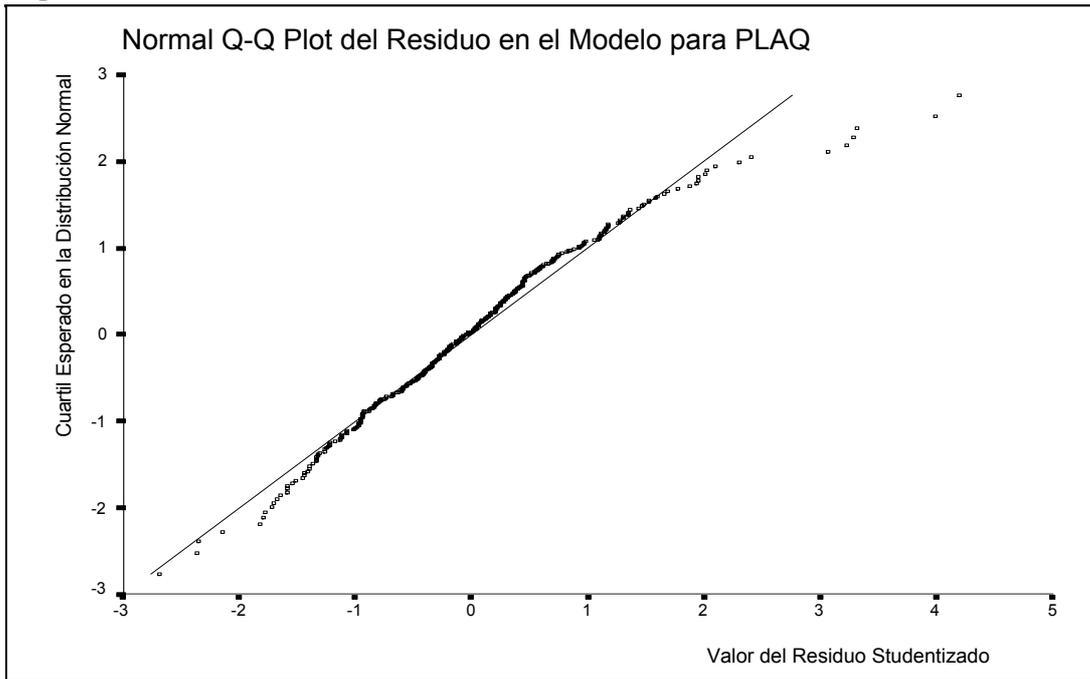
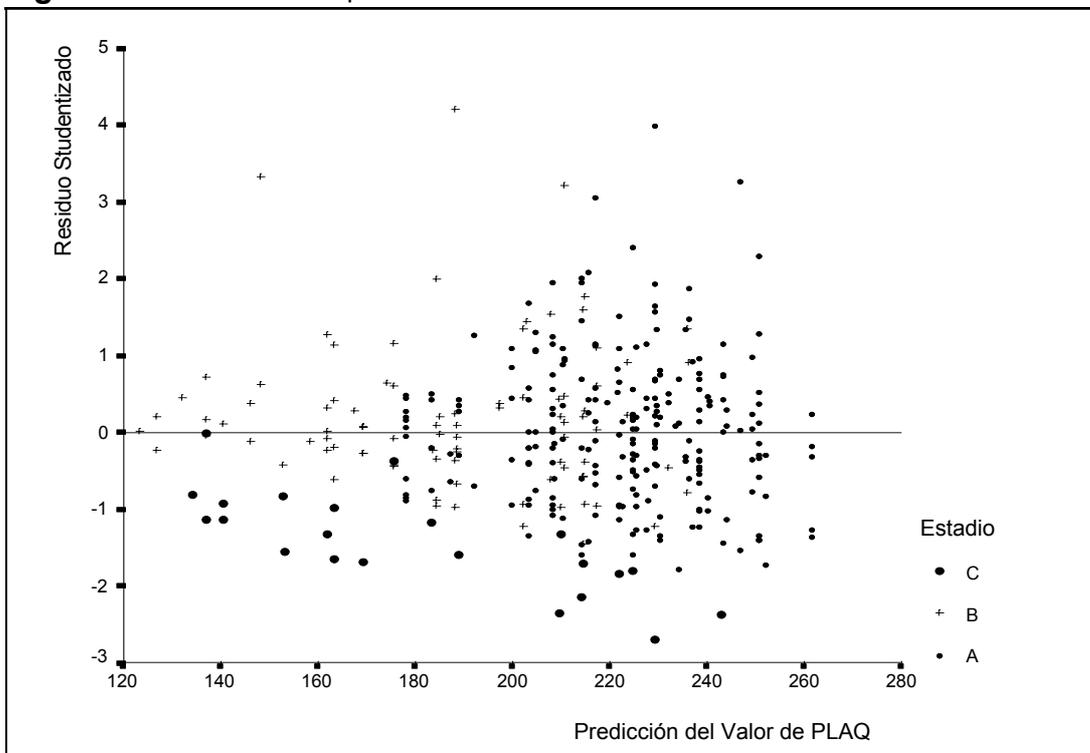


Figura 34. ANOVA1.3: Dispersión del Residuo frente a la Predicción de PLAQ.



La hipótesis de que los efectos de los factores sexo, edad y número de áreas deben ser tenidos en cuenta en la explicación conjunta de las tres variables respuesta (LOGNLYMP y HB y PLAQ) -tests del efecto global-, se contrasta basándose en el estadístico Lambda de Wilks, cuya distribución está relacionada con la F de Snedecor. Los tests realizados confirman la necesidad de considerar los tres factores en la explicación de la distribución conjunta de las variables respuesta. Las tres primeras filas de la **Tabla 39** exponen los resultados de dichos tests.

Estudiamos también la categorización de los factores edad y NROAREAS con la intención de reducir el número de niveles y buscar una **clasificación de significado global sobre las tres variables respuesta**. Los tests (**Tabla 39**) realizados indican que las clases de edad podrían reducirse únicamente a tres: pacientes con edad menor de 55, comprendida entre los 55 y los 69, y aquellos con edad superior o igual a 70 años. Colapsar las clases de [45-50[y [50-55[parece no justificarse, pero existen muy pocos pacientes con edad menor de 45 y cuando se colapsa dicha clase con la de [45-50[la diferencia con la clase de [50-55[ya no resulta significativa. Los test realizados sobre los efectos de NROAREAS indican que la clasificación de significado global entre las variables respuesta debería estar constituida también por tres clases: pacientes con ninguna o menos de 3 áreas afectadas; pacientes con exclusivamente tres áreas afectadas y aquellos que presentan afectación de 4 o 5 áreas.

Tabla 39. Test MANOVA del Efecto GLOBAL sobre LOGNLYMP, HB y PLAQ.

Efecto Global	Estadístico	Valor F	Grados de Libertad		Prob>F
	Lambda de Wilks		Núm.	Denominador	
SEXO	0'86783062	16'7021	3	329	4'E-10
EDAD *	0'87008808	1'9554	24	954'8013	0'0040
NROAREAS *	0'72140420	7'6067	15	908'6255	4'E-16
EDAD					
<45 VS [45-50[0'98733675	1'4065	3	329	0'2407
[45-50[VS [50-55[0'97104140	3'2705	3	329	0'0215
[50-55[VS [55-60[0'96131114	4'4136	3	329	0'0046
[55-60[VS [60-65[0'98491662	1'6795	3	329	0'1712
[60-65[VS [65-70[0'99180664	0'9060	3	329	0'4384
[65-70[VS [70-75[0'98431258	1'7478	3	329	0'1571
[70-75[VS [75-80[0'97889487	2'3644	3	329	0'0710
[75-80[VS >=80	0'98948551	1'1653	3	329	0'3230
<50 VS [50-55[0'97810766	2'4546	3	329	0'0631
[50-55[VS [55-70[0'96586084	3'8763	3	329	0'0095
[55-70[VS >=70	0'96707911	3'7332	3	329	0'0116
NROAREAS					
0 VS 1	0'99835366	0'1808	3	329	0'9094
1 VS 2	0'98480973	1'6916	3	329	0'1686
2 VS 3	0'96279611	4'2377	3	329	0'0059
3 VS 4	0'94866301	5'9346	3	329	0'0006
4 VS 5	0'98269246	1'9315	3	329	0'1243
0,1,2 VS 3	0'94695993	6'7550	3	329	0'0029
3 VS 4,5	0'89072414	13'4541	3	329	3'E-08
0,1,2 VS 3,4,5	0'79306966	28'6146	3	329	2'E-16

* El estadístico test se Aproxima a la Distribución F.

En los siguientes modelos MANOVA, los factores edad y NROAREAS se incluyen con los niveles reducidos que acabamos de mencionar.

2. MANOVA2. Consideración de los Valores Altos de NLYMP.

La descripción de NLYMP y LOGNLYMP permitió identificar un grupo de pacientes con valores superiores a $NLYMP=80$ ($LOGNLYMP=4'38$) con importante repercusión en la variabilidad y asimetría de estas distribuciones. Por otra parte, los diagramas de dispersión de LOGNLYMP (**Figura 26** y **Figura 27**) junto a la **Tabla 22** han permitido suponer la existencia de una zona intermedia de transición para los valores de NLYMP comprendidos en el intervalo $[40-80[$. Para estudiar el efecto que la identificación de estos grupos tiene sobre las respuestas, procedimos a construir un modelo MANOVA2 que incluye un factor explicativo indicador del valor de NLYMP (I_NLYMP). El factor consta de tres niveles correspondientes a los pacientes con NLYMP menor de 40, en el intervalo $[40-80[$ y mayor o igual a 80.

El modelo MANOVA2 incluye también los factores explicativos sexo, edad y número de áreas (NROAREAS), los dos últimos categorizados de acuerdo a la clasificación global sugerida por los tests contenidos en la **Tabla 39**. Los resultados se exponen de forma similar a la empleada con el modelo anterior, pero sin incluir el análisis de residuos, debido a que las representaciones son parecidas a las ya expuestas. Las diferencias importantes se describirán en el texto.

En la **Tabla 40** se encuentran las estimaciones de los efectos del submodelo ANOVA2.1 para el logaritmo del número de linfocitos, así como los test que contrastan la igualdad de los efectos de cada nivel con el de referencia. La consideración del factor indicador (I_NLYMP) en el modelo

ANOVA2.1 hace que el porcentaje de la variación de LOGNLYMP explicada por el modelo se incremente hasta el 71%. El modelo ANOVA1.1 explicaba sólo el 20% de dicha variación.

Tabla 40. ANOVA2.1: LOGNLYMP en función de Sexo, Edad, NROAREAS e I_NLYMP.

Parámetro		Estimación	Error Std. de la Estimación	T para H ₀ : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT		2'6794	0'0802	33'41	0'E+00
SEXO	Hombre	0'1240	0'0552	2'25	0'0254
	Mujer	0'0000	'	'	'
EDAD	>=70	-0'1188	0'0791	-1'50	0'1342
	[55-70[-0'1177	0'0779	-1'51	0'1318
	<55	0'0000	'	'	'
NROAREAS	[4 ó 5]	0'1382	0'0785	1'76	0'0792
	[3]	0'1947	0'0789	2'47	0'0142
	[0,1 ó 2]	0'0000	'	'	'
I_NLYMP	>=80	2'1710	0'0983	22'08	0'E+00
	[40-80[1'2645	0'0829	15'25	0'E+00
	<40	0'0000	'	'	'

Existe una diferencia significativa en los valores medios de LOGNLYMP por sexo: los hombres presentan valores medios más elevados. Se rechaza la igualdad de todos los efectos ligados a NROAREAS ($p=0'0237$). No existe diferencia significativa entre los efectos de presentar 3 y [4 o 5] áreas afectadas; al colapsar dichas clases, el efecto de presentar 3 o más áreas resulta significativamente diferente del que corresponde al nivel de referencia [0, 1, ó 2]. Como cabía esperar, los efectos del indicador del número de linfocitos son muy diferentes entre sí ($p<0'0001$).

Las estimaciones y contrastes de los efectos del modelo ANOVA2.2 para explicar la concentración de hemoglobina (**Tabla 41**) muestran diferencias significativas entre los efectos de los factores sexo, NROAREAS ($p=8 \times 10^{-7}$) e I_NLYMP ($p=2 \times 10^{-7}$). La concentración de hemoglobina (HB) es mayor en los hombres y pacientes con menos de tres áreas afectadas. No se detecta diferencia significativa entre los pacientes con afectación de tres y menos de tres áreas. Tampoco existen diferencias significativas en la media de HB de los pacientes con niveles de I_NLYMP por debajo de 80, pero el descenso en HB es importante en los pacientes con valores de NLYMP superiores. El porcentaje de la variación de HB explicada por el ANOVA2.2 es ahora del 27%, muy parecido al 25% del modelo ANOVA1.2.

Tabla 41. ANOVA2.2: HB en función de Sexo, Edad, NROAREAS e I_NLYMP.

Parámetro		Estimación	Error Std. de la Estimación	T para H_0 : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT		132'5351	2'8028	47'29	0'E+00
SEXO	Hombre	11'4124	1'9307	5'91	8'E-09
	Mujer	0'0000	'	'	'
EDAD	>=70	-1'7127	2'7675	-0'62	0'5364
	[55-70[2'9778	2'7236	1'09	0'2750
	<55	0'0000	'	'	'
NROAREAS	[4 ó 5]	-14'8237	2'7444	-5'40	1'E-07
	[3]	-2'8251	2'7600	-1'02	0'3068
	[0,1 ó 2]	0'0000	'	'	'
I_NLYMP	>=80	-19'4922	3'4368	-5'67	3'E-08
	[40-80[-0'6413	2'8981	-0'22	0'8250
	<40	0'0000	'	'	'

Algo similar ocurre con el modelo ANOVA2.3 para explicar la variable respuesta PLAQ (**Tabla 42**). El porcentaje de variación explicada por este modelo es del 15%, aumentando solamente un punto respecto al modelo anterior -ANOVA1.3-. Se rechaza la hipótesis de igualdad entre todos los efectos del sexo, la edad ($p=0'0028$), el número de áreas ($p=0'0010$) y el indicador de linfocitos I_NLYMP ($p=0'0074$). El número de plaquetas es menor y significativamente diferente en los hombres, en edades ≥ 70 años, cuando $NLYMP \geq 80$ y cuando se tienen cuatro o cinco áreas afectadas.

Tabla 42. ANOVA2.3: PLAQ en función de Sexo, Edad, NROAREAS e I_NLYMP.

Parámetro		Estimación	Error Std. de la Estimación	T para H_0 : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT		241'3370	11'8891	20'30	0'E+00
SEXO	Hombre	-16'9733	8'1899	-2'07	0'0390
	Mujer	0'0000	'	'	'
EDAD	≥ 70	-25'2173	11'7395	-2'15	0'0324
	[55-70[3'1569	11'5529	0'27	0'7848
	<55	0'0000	'	'	'
NROAREAS	[4 ó 5]	-43'5236	11'6415	-3'74	0'0002
	[3]	-12'6309	11'7075	-1'08	0'2814
	[0,1 ó 2]	0'0000	'	'	'
I_NLYMP	≥ 80	-41'8622	14'5782	-2'87	0'0043
	[40-80[10'4988	12'2932	0'85	0'3937
	<40	0'0000	'	'	'

Los tests MANOVA -Lambda de Wilks- realizados sobre los mismos factores son todos significativos ($p < 0'0074$). Por tanto, estos factores deben ser considerados en la explicación conjunta de las tres variables respuesta.

3. Estudio de la Correlación Parcial entre las Variables Respuesta.

Los modelos MANOVA permiten el estudio de la correlación -parcial- entre las variables respuesta después de ajustar por el efecto de los factores explicativos incluidos en el modelo. En la **Tabla 43** exponemos la correlación total y las correlaciones parciales correspondientes a cada modelo MANOVA, junto con los contrastes de que dichas correlaciones son iguales a cero.

Tabla 43. Correlación Total y Parcial entre cada par de Variables Respuesta.

Respuestas	CORRELACIÓN		
	TOTAL	PARCIAL	
		MANOVA1	MANOVA2
LOGNLYMP y HB	- 0'246150 (p=3'E-6)	- 0'151526 (p=0'0057)	0'037858 (p=0'4925)
LOGNLYMP y PLAQ	- 0'195180 (p=0'0002)	- 0'079720 (p=0'1472)	0'024391 (p=0'6584)
HB y PLAQ	0'278480 (p=1'E-5)	0'227458 (p=3'E-5)	0'194130 (p=0'0004)

Una vez que tenemos en cuenta los factores edad, sexo y número de áreas afectadas, incluidos en MANOVA1, resulta una correlación parcial negativa y diferente de cero entre LOGNLYMP y HB. También es importante la correlación entre la concentración de hemoglobina (HB) y el recuento de plaquetas (PLAQ). Sin embargo, la correlación entre LOGNLYMP y PLAQ no es significativamente diferente de cero.

El modelo MANOVA2 ajusta por los mismos factores que el anterior, pero incluye el indicador del número de linfocitos I_NLYMP. La inclusión de este factor remueve la correlación que existía entre LOGNLYMP y HB. Sin embargo, aunque un poco menor, la correlación entre HB y PLAQ sigue prácticamente intacta. Por tanto, **existe una relación entre HB y PLAQ no explicada por el aumento del número de linfocitos, ni por el número de áreas afectadas, la edad o el sexo.** En las **Figuras 35 a 38** es posible examinar la relación HB-PLAQ en ambos sexos por encima y por debajo del nivel 80 de NLYMP; los individuos se encuentran marcados según el estadio pronóstico de Binet et al. (1981).

Puede observarse -claramente en el grupo de hombres- la asociación existente entre los niveles de linfocitos y la concentración de hemoglobina (HB). También se observa que la correlación entre HB y PLAQ parece estar originada por los individuos en estadio C. En esos diagramas se ha señalado el nivel de HB y PLAQ que separa el grupo C, pero también el límite inferior de HB considerado "normal" para cada sexo y el nivel 200 para PLAQ, que parecía separar grupos diferentes al explorar esta variable. Llama la atención que, particularmente en el grupo de hombres, parece existir una clara asociación entre pertenecer al estadio B y tener un número de plaquetas por debajo del nivel 200. Además, para el grupo de hombres que no están en C, se observa asociación entre los dos niveles de HB y los dos niveles de PLAQ señalados en los diferentes diagramas.

Figura 35. Dispersión HB-PLAQ en Hombres con NLYMP < 80.

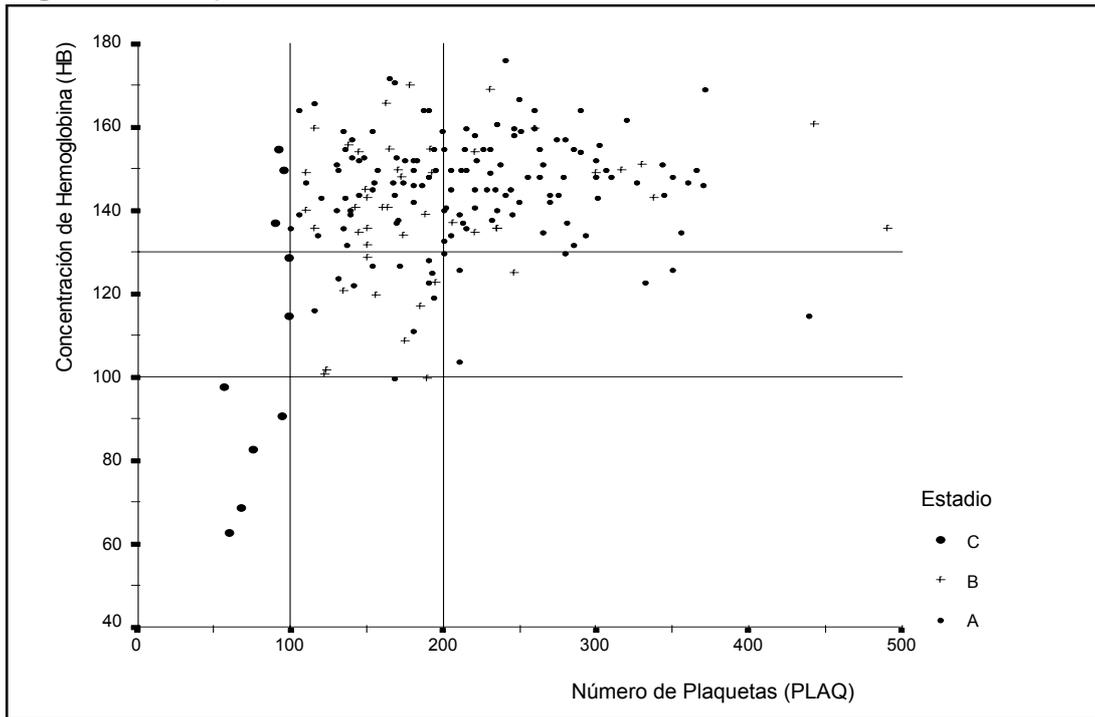


Figura 36. Dispersión HB-PLAQ en Mujeres con NLYMP < 80.

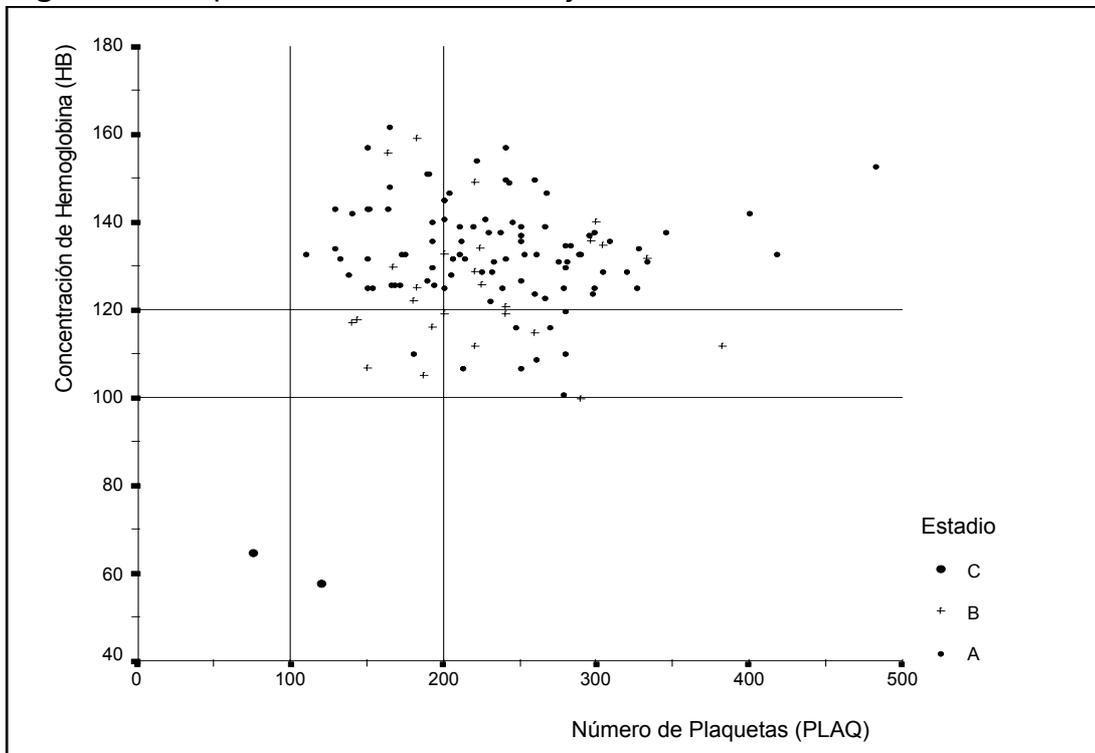


Figura 37. Dispersión HB-PLAQ en Hombres con NLYMP ≥ 80 .

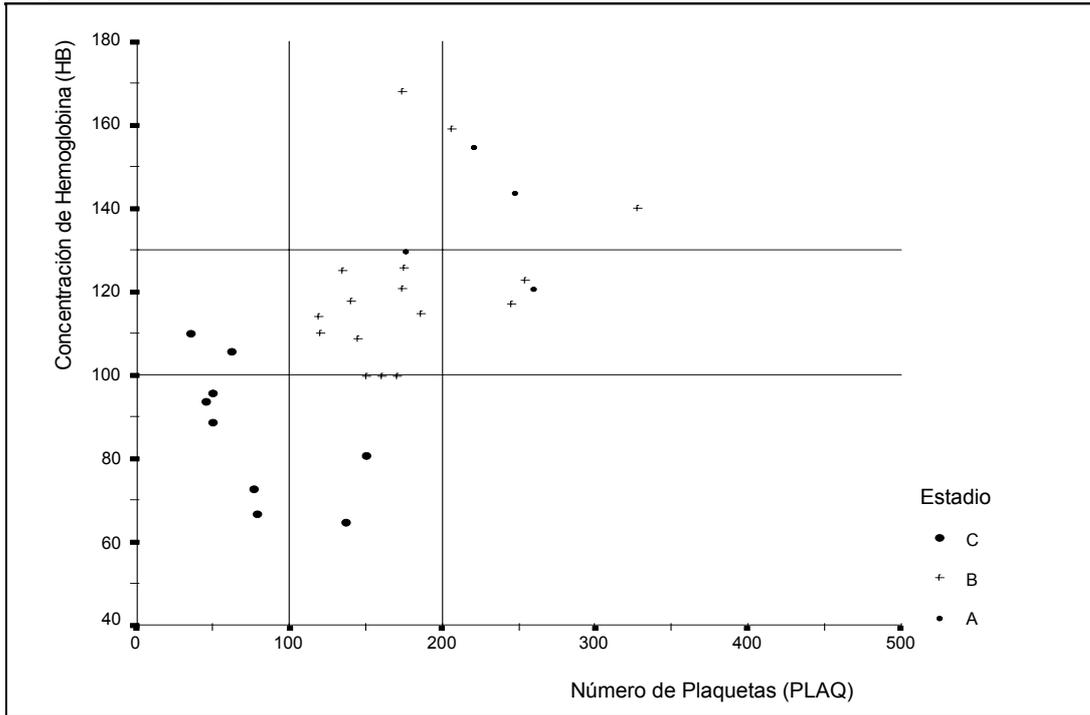
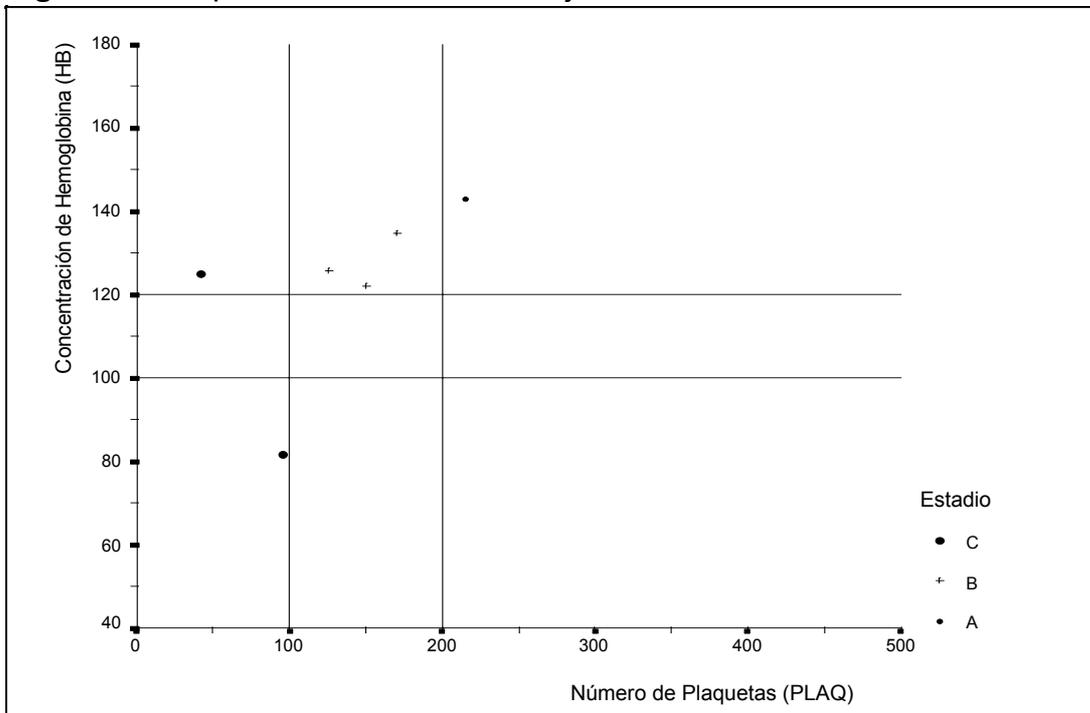


Figura 38. Dispersión HB-PLAQ en Mujeres con NLYMP ≥ 80 .



4. Definición del factor ZONA y modelo MANOVA3.

El modelo MANOVA3 considera la explicación de las variables respuesta en función de los factores sexo, edad y NROAREAS, pero incorpora además del indicador del número de linfocitos (I_NLYMP), otro **factor nuevo denominado ZONA**, que toma en consideración la localización de los pacientes en el plano de representación de la asociación entre HB y PLAQ. Su definición requiere el conocimiento del sexo, la concentración de hemoglobina y el número de plaquetas del paciente. El factor consta de los 9 niveles descritos en la **Tabla 44** y representados en la **Figura 39** (hombres) o **Figura 40** (mujeres). La **Tabla 44** incluye también el porcentaje de pacientes de la muestra de exploración localizados en cada zona.

Tabla 44. Definición del Factor explicativo ZONA.

Concentración de Hemoglobina (HB)		Número de Plaquetas (PLAQ)	ZONA	%
Hombres	Mujeres			
<100	<100	<100	1	3'4
<100	<100	[100-200]	2	0'8
<100	<100	>200	3	0'0
[100-130]	[100-120]	<100	4	1'1
[100-130]	[100-120]	[100-200]	5	11'3
[100-130]	[100-120]	>200	6	6'5
>130	>120	<100	7	1'1
>130	>120	[100-200]	8	32'6
>130	>120	>200	9	43'1

Figura 39. Definición Gráfica del factor ZONA para los Hombres.

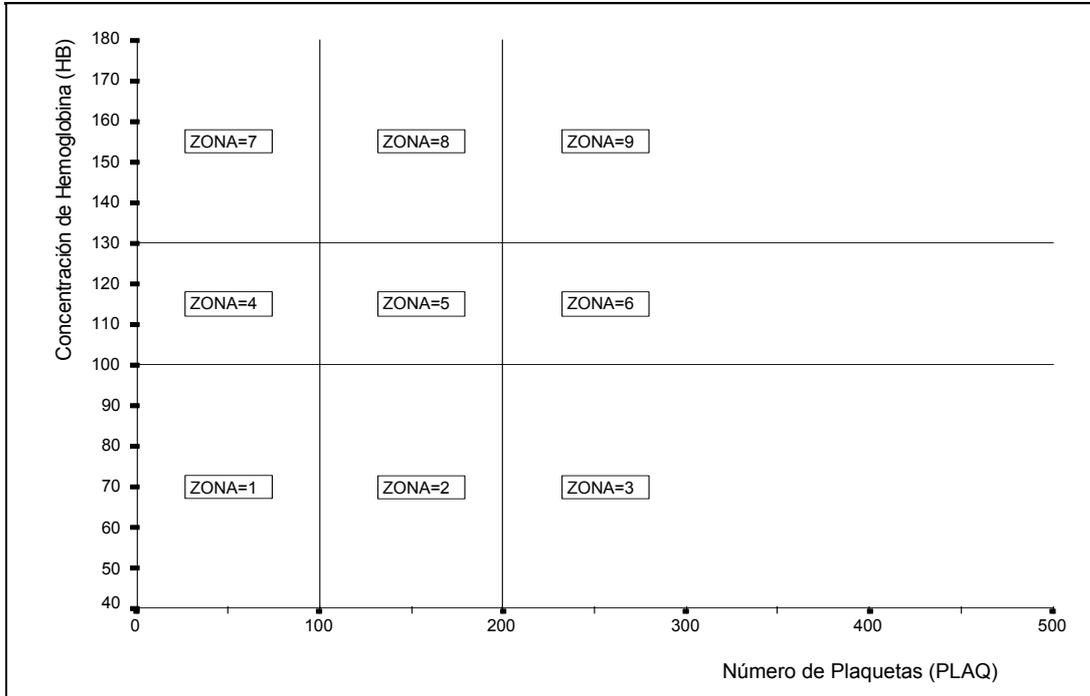
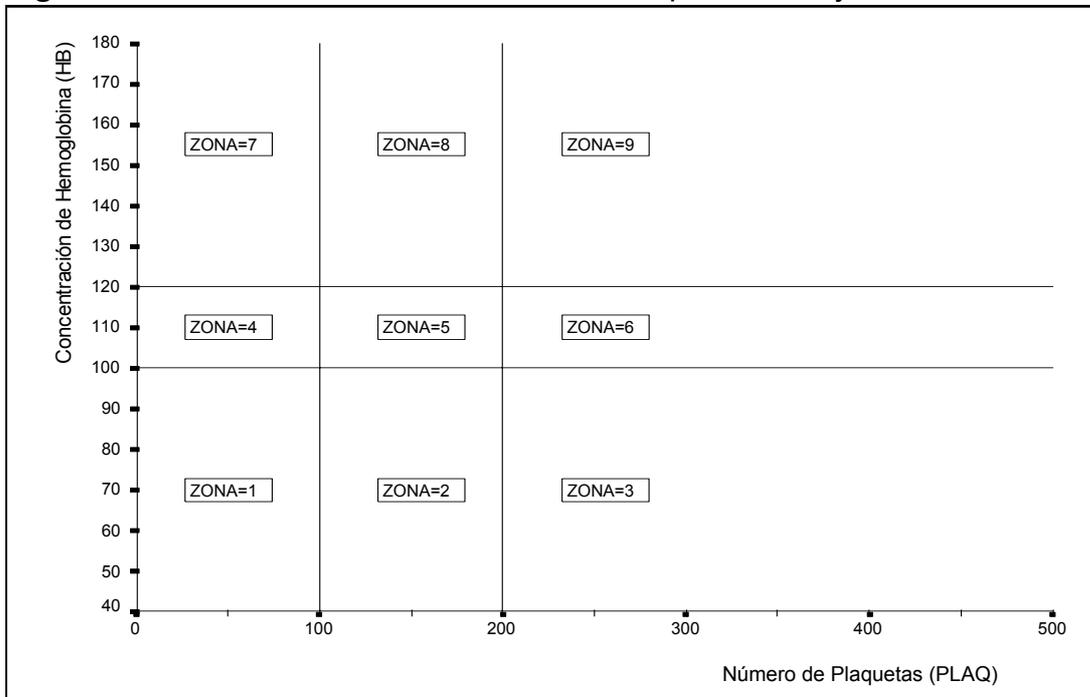


Figura 40. Definición Gráfica del factor ZONA para las Mujeres.



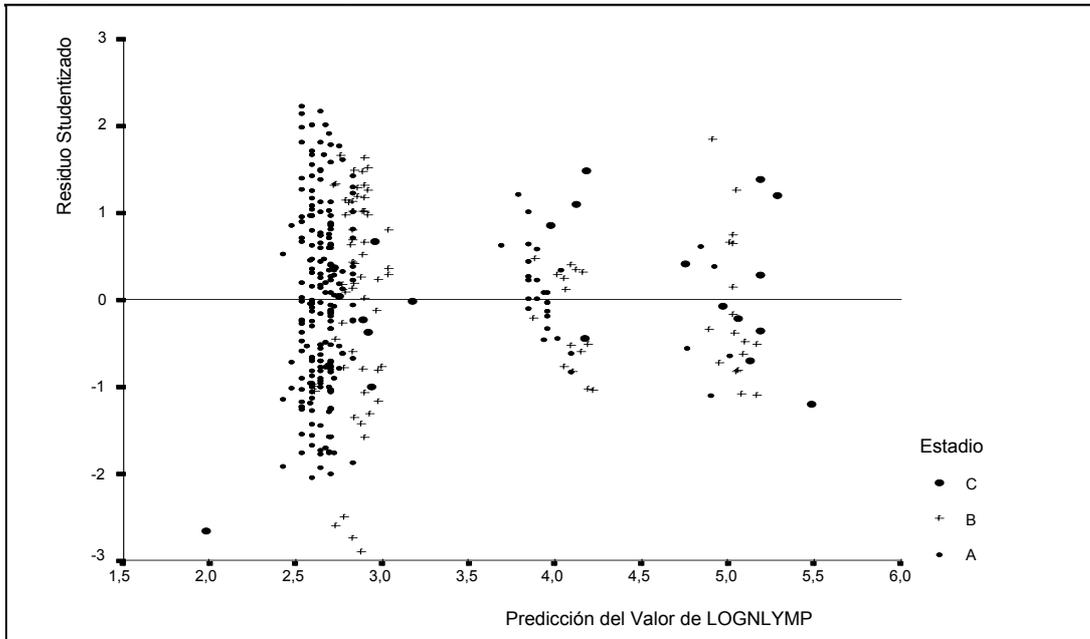
Al definir el factor ZONA se tienen en cuenta, además de los límites para HB y PLAQ utilizados en la clasificación de Binet et. al. (1981), los límites inferiores del intervalo de referencia considerado “normal” para HB en la población de hombres y de mujeres, y el valor 200 para PLAQ, que parece identificar grupos diferentes en el análisis de exploración.

La consideración del factor **ZONA** no produce cambios drásticos sobre el submodelo ANOVA3.1, que explica el 72% de la variabilidad de LOGNLYMP -el modelo ANOVA2.1 explicaba el 71%- . Se observa una diferencia en los niveles de LOGNLYMP por sexo, pero dicha diferencia deja de ser significativa, encontrándose ahora sólo al borde de la significación. Tampoco se observan diferencias significativas entre los efectos de los diferentes niveles de edad ($p=0'1725$). Sin embargo, observamos diferencias significativas en los efectos del factor NROAREAS, el indicador de linfocitos y también ZONA. En la **Tabla 45** se exponen los efectos del modelo y se puede comprobar como sólo el efecto de encontrarse en la ZONA número 2 es significativamente diferente al efecto de estar en la ZONA 9 ($p=0'0017$). Hay que señalar sin embargo que hay muy pocos pacientes en esa ZONA. En la **Figura 41** se puede observar la dispersión de los residuos del modelo respecto a la predicción de LOGNLYMP. Aparte de algunas observaciones que pueden ser consideradas “outliers”, se distinguen con claridad tres grupos de residuos correspondientes a las clases del factor I_NLYMP. La dispersión del residuo es mayor cuando NLYMP es menor de 40.

Tabla 45. ANOVA3.1: LOGNLYMP en función de Sexo, Edad, NROAREAS, I_NLYMP, ZONA.

Parámetro		Estimación	Error Std de la Estimación	T para H ₀ : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT		2'7230	0'0820	33'18	0'E+00
SEXO	Hombre	0'1091	0'0555	1'97	0'0501
	Mujer	0'0000	'	'	'
EDAD	>=70	-0'1194	0'0799	-1'49	0'1363
	[55-70[-0'1302	0'0779	-1'67	0'0959
	<55	0'0000	'	'	'
NROAREAS	[4 ó 5]	0'1906	0'0830	2'30	0'0223
	[3]	0'2047	0'0794	2'58	0'0104
	[0, 1 ó 2]	0'0000	'	'	'
I_NLYMP	>=80	2'1725	0'1049	20'70	0'E+00
	[40-80[1'2602	0'0828	15'21	0'E+00
	<40	0'0000	'	'	'
ZONA	1	-0'0048	0'1566	-0'03	0'9756
	2	-0'9377	0'2963	-3'16	0'0017
	4	0'4194	0'2904	1'44	0'1497
	5	-0'0279	0'1007	-0'28	0'7818
	6	-0'1659	0'1097	-1'51	0'1316
	7	0'0184	0'2507	0'07	0'9415
	8	-0'0603	0'0617	-0'98	0'3286
	9	0'0000	'	'	'

Figura 41. ANOVA3.1: Dispersión del Residuo frente a la Predicción de LOGNLYMP.



El factor ZONA aporta información sobre la concentración de hemoglobina y en consecuencia se observa un cambio importante en la varianza explicada por el modelo, que pasa a ser 77%, mientras que antes dicho porcentaje era de sólo un 27% (ANOVA2.2). Únicamente resultan necesarios en la explicación de HB los efectos del sexo y ZONA ($p \ll 0'0001$). La inclusión de ZONA hace que pierdan importancia en la explicación de HB, factores como I_NLYMP, ($p = 0'9936$) y NROAREAS ($p=0'0985$). En la **Tabla 46** se exponen las estimaciones de los efectos de este modelo, mientras que en la **Figura 42** se puede observar la dispersión del residuo frente a la predicción del modelo; la predicción resulta mucho mejor para los pacientes clasificados en el estadio C, si comparamos con el modelo ANOVA1.2 (**Figura 32**). Los grupos de residuos observados se deben a la consideración del factor ZONA, que distingue claramente los hombres de las mujeres dentro del grupo de pacientes con hemoglobina clínicamente “normal” -concentraciones superiores a 120-.

Con la inclusión del factor ZONA en el modelo ANOVA3.3 (**Tabla 47**) se explica el 68% de la variación de PLAQ, pero el único factor con efectos significativamente diferentes al de referencia es ZONA ($p \ll 0'0001$). Con este modelo se mejora la predicción de los valores de PLAQ en los individuos clasificados en el estadio C de Binet et al. (1981), si comparamos con el modelo ANOVA1.3 (**Figura 34**). Los grupos observados en el diagrama de dispersión de los residuos frente a la predicción del modelo (**Figura 43**) se deben al factor ZONA. Los errores en el grupo con plaquetas más altas mejorarían si se prescindiera del pequeño porcentaje de pacientes con plaquetas por encima de 400 (ver el histograma de la **Figura 20**).

Tabla 46. ANOVA3.2: HB en función de Sexo, Edad, NROAREAS, I_NLYMP y ZONA.

Parámetro		Estimación	Error Std de la Estimación	T para H ₀ : Parámetro=0	Prob > T
INTERCEPT		135'4609	1'6262	83'30	0'E+00
SEXO	Hombre	12'3424	1'1000	11'22	6'E-25
	Mujer	0'0000	'	'	'
EDAD	>=70	0'7838	1'5838	0'49	0'6210
	[55-70[0'4699	1'5446	0'30	0'7611
	<55	0'0000	'	'	'
NROAREAS	[4 ó 5]	-3'2347	1'6462	-1'96	0'0503
	[3]	0'5408	1'5738	0'34	0'7313
	[0, 1 ó 2]	0'0000	'	'	'
I_NLYMP	>=80	-0'1760	2'0802	-0'08	0'9326
	[40-80[0'1000	1'6426	0'06	0'9515
	<40	0'0000	'	'	'
ZONA	1	-63'5959	3'1048	-20'48	0'E+00
	2	-72'6353	5'8733	-12'37	4'E-29
	4	-36'8127	5'7563	-6'40	5'E-10
	5	-29'0342	1'9973	-14'54	2'E-37
	6	-25'4695	2'1756	-11'71	1'E-26
	7	-2'2121	4'9691	-0'45	0'6565
	8	0'7303	1'2232	0'60	0'5509
	9	0'0000	'	'	'

Figura 42. ANOVA3.2: Dispersión del Residuo frente a la Predicción de HB.

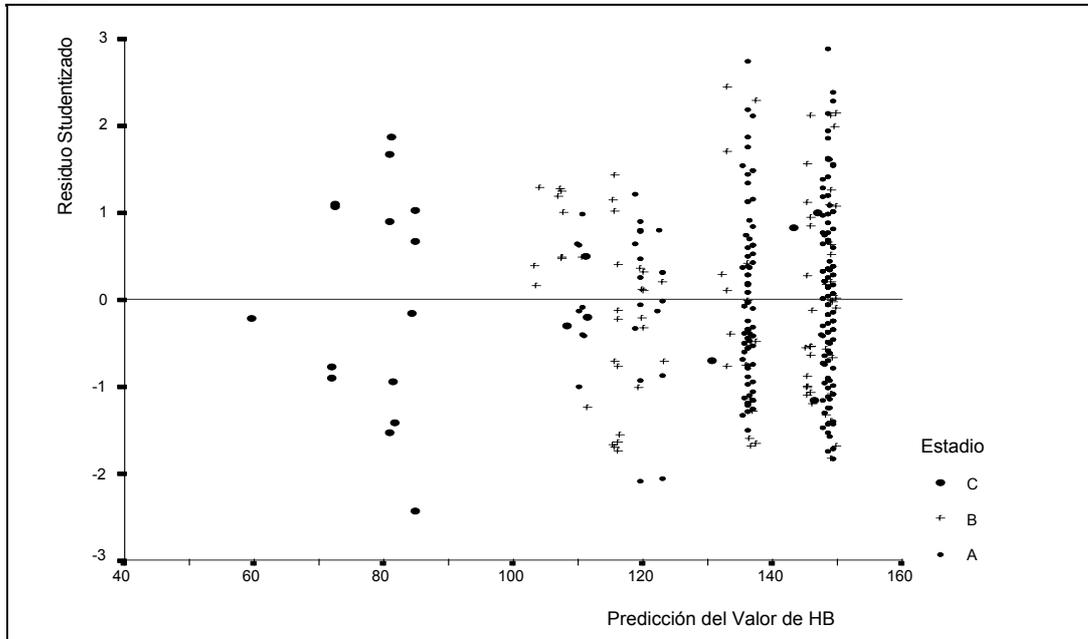
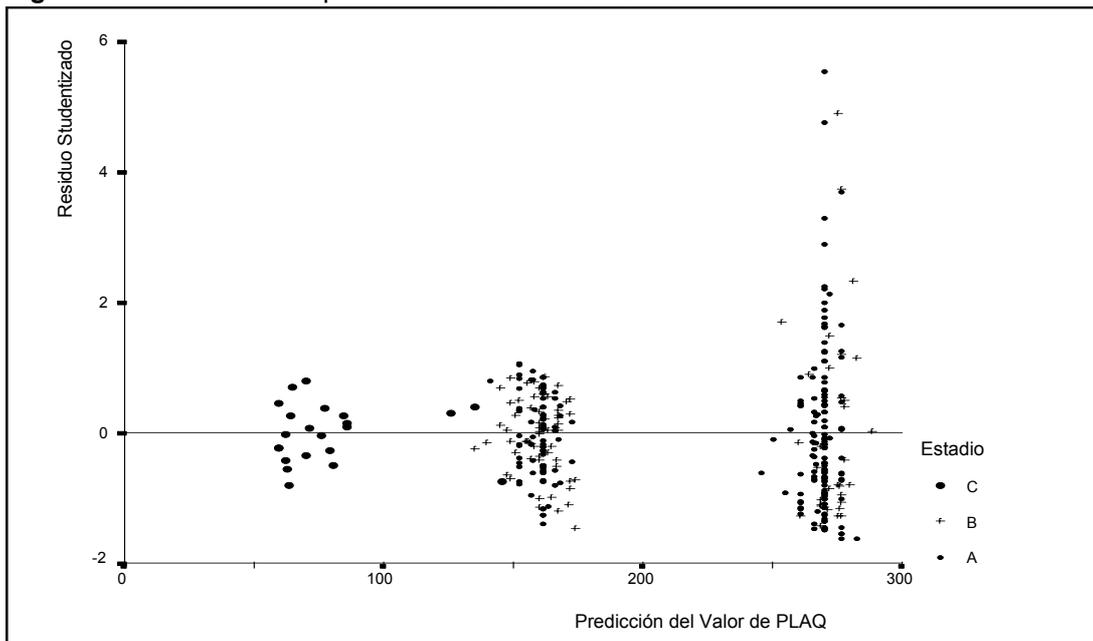


Tabla 47. ANOVA3.3: PLAQ en relación con Sexo, Edad, NROAREAS, I_NLYMP y ZONA.

Parámetro		Estimación	Error Std de la Estimación	T para H ₀ : Parámetro=0	Prob> T
INTERCEPT		265'6109	7'6487	34'73	0'E+00
SEXO	Hombre	0'3249	5'1738	0'06	0'9500
	Mujer	0'0000	'	'	'
EDAD	>=70	-1'3327	7'4511	-0'18	0'8582
	[55-70[5'8393	7'2666	0'80	0'4222
	<55	0'0000	'	'	'
NROAREAS	[4 ó 5]	-1'3326	7'7426	-0'17	0'8634
	[3]	6'0319	7'4021	0'81	0'4157
	[0, 1 ó 2]	0'0000	'	'	'
I_NLYMP	>=80	-15'3918	9'7839	-1'57	0'1166
	[40-80[6'3515	7'7255	0'82	0'4116
	<40	0'0000	'	'	'
ZONA	1	-189'7762	14'6030	-13'00	2'E-31
	2	-118'4017	27'6237	-4'29	2'E-05
	4	-191'2025	27'0733	-7'06	1'E-11
	5	-104'2914	9'3940	-11'10	1'E-24
	6	6'3490	10'2328	0'62	0'5354
	7	-190'6862	23'3711	-8'16	7'E-15
	8	-108'6496	5'7534	-18'88	0'E+00
	9	0'0000	'	'	'

Figura 43. ANOVA3.3: Dispersión del Residuo frente a la Predicción de PLAQ.



Los resultados de los submodelos incluidos en el análisis MANOVA3 permiten apreciar como **pierde importancia el efecto del número de áreas afectadas (NROAREAS) para explicar la concentración de hemoglobina (HB) y el recuento de plaquetas (PLAQ)**, cuando se conoce el factor ZONA. El ajuste por ZONA hace disminuir la importancia de sexo al explicar LOGNLYMP y **aumenta la importancia de tener 4 o 5 áreas afectadas**.

La consideración del factor ZONA en el modelo MANOVA3 remueve la correlación parcial entre HB y PLAQ, que deja de ser significativamente diferente de cero ($p=0'4912$). Los test MANOVA -Lambda de Wilks- confirman, que a excepción de la edad ($p=0'5408$), todos los demás factores (sexo, NROAREAS, I_NLYMP y ZONA) son necesarios para explicar la distribución conjunta de las tres variables respuesta.

C. Estudio limitado a los pacientes clasificados en estadios A y B.

En el apartado B se ha puesto de manifiesto una asociación entre la concentración de hemoglobina (HB) y el recuento de plaquetas (PLAQ) en los pacientes de LLC; sin embargo, si excluimos del análisis a los pacientes clasificados en el estadio C, la correlación total HB-PLAQ y LOGNLYMP-PLAQ deja de ser significativamente diferente de cero ($p>0'1029$), manteniéndose todavía la correlación -total- significativa ($p=0'0006$) entre LOGNLYMP y HB. En este apartado profundizaremos en la investigación de los pacientes que no

han sido clasificados en C, ya que son aquellos cuya evolución nos interesa estudiar.

Partiendo del modelo MANOVA que contempla la explicación de las respuestas en función del sexo y la edad, incluiremos, uno a uno, otros factores explicativos, en particular NROAREAS y variables que indican los niveles iniciales de linfocitos (I_NLYMP), de concentración de hemoglobina (I_HB) y del recuento plaquetario (I_PLAQ). De esta forma podemos observar, para cada submodelo ANOVA, los cambios en el Coeficiente de Determinación (R^2) -proporción de la variabilidad total explicada por los factores incluidos en el modelo- y las variaciones en la estimación de los efectos producidas por la inclusión de los distintos factores. Para la edad, NROAREAS e I_NLYMP utilizaremos los mismos niveles que en el MANOVA2. Para la concentración inicial de hemoglobina, utilizaremos I_HB con tres niveles, [100-120],]120-130] y >130, relacionados con los límites de concentración “normal” en hombres y en mujeres. Teniendo en cuenta que dichos límites son diferentes se estudiará, a la vez que I_HB, su interacción con sexo. Para las plaquetas (I_PLAQ) se utilizarán los dos niveles [100-200] y >200, que parecen tener importancia según la exploración realizada hasta el momento. Al restringirnos a los estadios A y B, no existen individuos con nivel inicial de plaquetas o hemoglobina por debajo de 100.

1. NROAREAS en la explicación de las Variables Respuesta.

En la **Tabla 48** se presentan los modelos que permiten conocer la contribución del número de áreas afectadas a la explicación de cada variable respuesta, sin considerar otros factores explicativos previos diferentes del sexo y la edad de los pacientes. El coeficiente de determinación (R^2) se incrementa al incluir NROAREAS en el modelo, debido a que el número de áreas afectadas recoge información sobre cualquiera de las variables respuesta. Sin embargo, dicha información no es suficiente para anular la correlación parcial (ajustada por edad, sexo y NROAREAS) entre LOGNLYMP y HB, que resulta significativamente diferente de cero ($p=0'0167$). Además, el porcentaje de variabilidad de las respuestas explicado por el sexo edad y número de áreas no supera el 21%, lo que significa que la mayor parte de la variabilidad en las respuestas permanece inexplicada.

La consideración de NROAREAS en el modelo produce cambios en el efecto del sexo. Estos cambios no son demasiado importantes, manteniéndose el sentido y signo de los coeficientes. Los hombres presentan valores de LOGNLYMP y HB más elevados, pero un recuento medio de plaquetas inferior al de las mujeres. La explicación de LOGNLYMP y HB no precisa la consideración de la edad de los pacientes, pero los individuos con edad igual o superior a 70 años presentan recuento medio de PLAQ por debajo del resto. Los pacientes con menos de tres áreas afectadas presentan valor medio de LOGNLYMP más bajo, con concentración de hemoglobina y recuento de plaquetas más elevados.

Tabla 48. Contribución de NROAREAS a la explicación de las Variables Respuesta.

Respuesta	Modelo	R ²	FUENTES DE VARIACIÓN		
			-Resultados Test F Parcial-		
			Sexo	Edad	NROAREAS
LOGNLYMP	L1	0'03	S	NS	
	L2	0'15	S	NS	S
HB	H1	0'12	S	NS	
	H2	0'21	S	NS	S
PLAQ	P1	0'05	S	S	
	P2	0'09	S	S	S

R²=Coeficiente de determinación. S=Significativo ($\alpha=0'05$). NS= No significativo ($\alpha=0'05$).

2. I_NLYMP en la explicación de las Variables Respuesta.

En la **Tabla 49** resumimos el estudio de la contribución de I_NLYMP a la explicación de las variables respuesta. La inclusión de I_NLYMP anula la correlación parcial entre la concentración de hemoglobina y LOGNLYMP sean cuales sean el resto de los factores de ajuste considerados. Además, se produce un incremento esperado e importante en el coeficiente de determinación (R²) del modelo L3, si lo comparamos con los modelos L1 y L2 de la **Tabla 48**. La inclusión de NROAREAS (modelo L4) prácticamente no aporta información para explicar LOGNLYMP, cuando se conoce I_NLYMP, pero explica totalmente el pequeño efecto del sexo sobre LOGNLYMP, incrementándose muy poco R². El efecto del sexo sobre LOGNLYMP es debido a la mayor proporción de hombres con NLYMP>80 en la muestra de exploración, como se puede comprobar en la **Tabla 20**. Las estimaciones de los efectos de NROAREAS en el modelo L4 son muy diferentes -magnitud inferior- a las realizadas en el modelo L2, aunque se mantiene el sentido y

signo de los coeficientes. Los efectos de I_NLYMP en los modelos L2, L3 y L4 tienen igual signo y magnitud muy similar.

Tabla 49. Contribución de I_NLYMP en la explicación de las Variables Respuesta.

Respuesta	Modelo	R ²	FUENTES DE VARIACIÓN			
			-Resultados Test F Parcial-			
			Sexo	Edad	I_NLYMP	NROAREAS
LOGNLYMP	L3	0'66	S	NS	S	
	L4	0'67	NS	NS	S	S
HB	H3	0'19	S	NS	S	
	H4	0'24	S	NS	S	S
PLAQ	P3	0'07	S	S	NS	
	P4	0'09	S	S	NS	S

R²=Coeficiente de determinación. S=Significativo ($\alpha=0'05$). NS= No significativo ($\alpha=0'05$).

El factor I_NLYMP también es necesario para explicar la concentración de hemoglobina (HB) en el modelo H3, incrementándose el coeficiente de determinación respecto al modelo H1 (**Tabla 48**). La consideración posterior del factor NROAREAS en el modelo H4, aporta cierta información adicional -se incrementa (R²)- para explicar HB. Las estimaciones de los efectos de I_NLYMP y NROAREAS en el modelo H4 sufren algunos cambios poco importantes, respecto a los coeficientes de los modelos H3 y H2. Dichos cambios se deben a la asociación entre NROAREAS y el número de linfocitos (I_NLYMP). Como cabía esperar, dada la no correlación entre LOGNLYMP y PLAQ, el indicador I_NLYMP no aporta información sobre el número de plaquetas (PLAQ) -modelos P3 y P4 de la **Tabla 48**-.

3. I_HB en la explicación de las Variables Respuesta.

La información sobre los niveles de concentración de hemoglobina (I_HB) y el sexo resulta significativa para explicar LOGNLYMP aún cuando se conozca NROAREAS, pero no si se conoce el nivel de linfocitos, como puede apreciarse en la **Tabla 50**; en el último caso -modelo L8- NROAREAS aporta una pequeña pero significativa información. Como es lógico, I_HB (y su interacción con sexo) explican en gran parte el valor de HB; cuando se dispone de esa información cualquier otra entre las consideradas resulta redundante. Los niveles de hemoglobina (I_HB) no contribuyen a explicar PLAQ. El coeficiente de determinación de los modelos explicativos de PLAQ en la **Tabla 50** sigue siendo muy bajo.

Tabla 50. Contribución de I_HB a la explicación de las Variables Respuesta.

Respuesta	Modelo	R ²	FUENTES DE VARIACIÓN					
			-Resultados Test F Parcial-					
			Sexo	Edad	I_HB	NROAREAS	I_NLYMP	Sexo*I_HB
LOGNLYMP	L5	0'12	S	S	S			S
	L6	0'19	S	NS	S	S		S
	L7	0'65	NS	NS	NS		S	NS
	L8	0'67	NS	NS	NS	S	S	NS
HB	H5	0'72	NS	NS	S			S
	H6	0'72	NS	NS	S	NS		S
	H7	0'72	NS	NS	S		NS	S
	H8	0'72	NS	NS	S	NS	NS	S
PLAQ	P5	0'08	S	S	NS			NS
	P6	0'10	S	S	NS	S		NS
	P7	0'08	S	S	NS		NS	NS
	P8	0'10	S	S	NS	S	NS	NS

R²=Coeficiente de determinación. S=Significativo ($\alpha=0'05$). NS= No significativo ($\alpha=0'05$).

4. I_PLAQ en la explicación de las Variables Respuesta

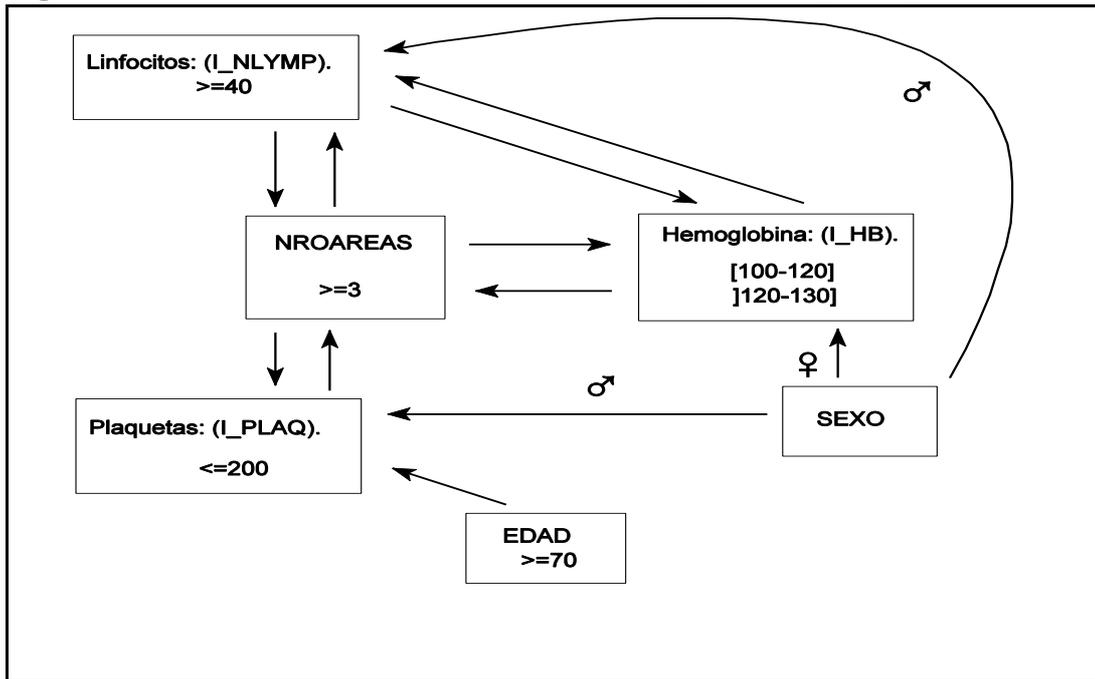
A partir de un análisis similar a los recogidos en la **Tabla 48**, **Tabla 49** y **Tabla 50** para estudiar la contribución del factor indicador del número de plaquetas (I_PLAQ) en la explicación de las variables respuesta, se concluye que es innecesario considerar I_PLAQ en la explicación de LOGNLYMP y HB. Sin embargo, el indicador I_PLAQ es capaz de explicar por sí mismo el 60% de la variabilidad del recuento de plaquetas (PLAQ), haciendo innecesaria la consideración de otros factores como el sexo, la edad o el número de áreas.

5. Asociación entre los factores: NROAREAS, I_NLYMP, I_HB e I_PLAQ.

Para estudiar la asociación entre NROAREAS, I_NLYMP, I_HB e I_PLAQ, escogimos en este orden uno a uno cada factor, y construimos diferentes modelos para la transformación logit de la probabilidad de ser clasificado en los diferentes niveles de la variable escogida, en función de la edad, el sexo, y el resto de los factores no seleccionados como factor a explicar. Los modelos fueron implementados mediante el procedimiento (CATMOD) del paquete estadístico SAS. Los análisis confirman los resultados obtenidos previamente en los modelos MANOVA; estos resultados se comentan a continuación y se resumen en la **Figura 44**. En esta figura, las flechas que apuntan hacia cada recuadro indican asociaciones entre variables, es decir, la necesidad de considerar diferentes factores en el modelo explicativo de la variable incluida dentro del recuadro.

La probabilidad de presentar valores del recuento de plaquetas en el intervalo [100-200] es mayor, si se tienen más de 70 años.

Figura 44. Asociación entre los factores NROAREAS, I_NLYMP, I_HB e I_PLAQ.



Las mujeres presentan valores de concentración de hemoglobina (HB) en los intervalos [100-120] y [120-130] con mayor probabilidad que los hombres. Sin embargo, la probabilidad de presentar valores del recuento de plaquetas (PLAQ) en el intervalo [100-200] es mayor en los hombres, los cuales tienen valores de linfocitos superiores o iguales a 40 con mayor frecuencia que las mujeres.

La probabilidad de tener más de tres áreas afectadas (NROAREAS \geq 3), es decir, de estar en el estadio B, es mayor si: el número de linfocitos es superior o igual a 40, existen niveles bajos de hemoglobina o un recuento de plaquetas menor de 200. En consecuencia, dicho estadio tiende a estar formado por individuos con las características antes mencionadas. Sin embargo, los pacientes con niveles de linfocitos inferiores a 40 suelen tener menos de tres áreas afectadas y son clasificados en el estadio A. En el estadio

A, un 12% de los individuos presenta valores de concentración de hemoglobina por debajo del límite inferior del intervalo considerado “normal” para su sexo; el 40% tiene un recuento de plaquetas en el intervalo [100-200]; mientras que sólo un 6% presentan valores de concentración de hemoglobina y recuento de plaquetas simultáneamente bajos.

La explicación de I_HB precisa la inclusión en el modelo de I_PLAQ y viceversa, sólo si NROAREAS no está en el modelo. Cuando aceptamos el número de áreas como variable explicativa, la situación es la descrita en la **Figura 44**. Por consiguiente, la inclusión del sexo, edad y número de áreas hace innecesaria la consideración de I_HB en la explicación de la probabilidad de presentar diferentes niveles iniciales de plaquetas (I_PLAQ). Tampoco es necesario incluir en el modelo I_PLAQ, si consideramos sexo, NROAREAS e I_NLYMP en la explicación de I_HB.

6. Los niveles iniciales I_HB e I_PLAQ en relación con ZONA.

En los pacientes con concentración de hemoglobina (HB) y número de plaquetas (PLAQ) superiores a 100 -clasificados en los estadios A y B- el indicador de hemoglobina (I_HB) incluye dos niveles con hemoglobina “anormal” para los hombres -por debajo de 130 g/l-, pero sólo un nivel para las mujeres -por debajo de 120 g/l-. Parece razonable la exploración de lo que significan los niveles de HB “normales” y “anormales” dentro de cada sexo. En relación con el modelo H5 (**Tabla 50**) se tienen dos grados de libertad menos, lo que repercute en un 8% de la varianza total de HB. A pesar de todo, con menos grados de libertad todavía se explica un 64% de la varianza y las clases

correspondientes mantienen un **interés clínico particular** con análogo sentido en los hombres y las mujeres.

Aunque en los pacientes de los estadios A o B la correlación -total- entre HB y PLAQ no es significativamente diferente de cero, el test de la χ^2 rechaza la independencia entre los niveles iniciales de concentración de hemoglobina -"normal" y "anormal"- y recuento plaquetario -[100-200], >200- ($p=0'003$). Como acabamos de exponer en el apartado anterior, la inclusión en los modelos de diferentes variables puede hacer innecesario considerar la asociación entre dichos niveles iniciales; sin embargo, es importante tener en cuenta que esta asociación podría estar relacionada con diferentes patrones de evolución de las variables respuesta.

Tabla 51. Muestra E: Distribución de ZONA condicionada al Estadio pronóstico.

% Estadio	ZONA			
	5	6	8	9
A	5'86	6'28	34'31	53'56
B	28'57	8'79	36'26	26'37

El factor ZONA considera la distribución conjunta según los niveles iniciales de concentración de hemoglobina y plaquetas (**Tabla 51**). En los estadios A y B las localizaciones, zonas o niveles se restringen a: 5, 6, 8 y 9. Los individuos en zona nueve presentan niveles de hemoglobina y plaquetas compatibles con la "normalidad" clínica, mientras que los individuos en la zona cinco tienen concentración de hemoglobina y recuento plaquetario "anormales". Los pacientes en zona seis y ocho presentan valores "anormales" de hemoglobina o plaquetas respectivamente.

Cuando ajustamos el modelo MANOVA3 a los individuos en estadio A o B, se confirma que el factor ZONA no es necesario en la explicación de LOGNLYMP, y que tampoco es necesaria la interacción ZONA*Sexo para explicar HB. Sin embargo, el estadístico test de este último contraste presenta un valor en el límite de la significación ($p=0'0633$). Los test MANOVA -Lambda de Wilks- confirman, que a excepción de la edad ($p=0'5408$), todos los demás factores (sexo, NROAREAS, I_NLYMP y ZONA) son necesarios en la explicación conjunta de las tres variables respuesta.

El modelo logit para explicar la probabilidad de localizarse en cada zona necesita incluir como factores explicativos el sexo, el número de áreas (NROAREAS) y los niveles iniciales de linfocitos (I_NLYMP). La probabilidad de localización en la zona cinco es significativamente mayor cuando se pertenece al grupo de hombres. La localización en las zonas cinco seis u ocho es significativamente menos probable cuando $NROAREAS < 3$. Si el número de linfocitos es menos de 40, la probabilidad de estar localizado en la zona cinco es menor.

En el análisis de evolución de los capítulos 7 y 8 incluiremos el factor ZONA, para estimar las pendientes de las respuestas en cada una de las localizaciones o niveles (5, 6, 8 y 9). Tomaremos como clase de referencia a los pacientes localizados en la zona nueve, debido a que presentan concentraciones de hemoglobina y recuento de plaquetas compatibles con la normalidad clínica. Sólo incluiremos la interacción ZONA*Sexo, cuando sea necesaria en la explicación de HB -test F parcial significativo-.

Capítulo 7.

Análisis de la Evolución en la Muestra de Exploración.

El análisis del balance inicial ha permitido poner de manifiesto diferencias y asociaciones en las características de los pacientes al comienzo del seguimiento. **El objetivo del estudio de la evolución en la muestra E es la investigación del efecto que dichas diferencias y asociaciones tienen sobre la evolución de las variables respuesta -LOGNLYMP, HB, PLAQ-**. En otras palabras, lo que nos interesa es estudiar la relación de las respuestas con el tiempo y **la identificación de diferentes patrones de evolución** -pendientes de la recta de respuesta en el tiempo-, relacionados con la información recogida en el balance inicial. **El análisis se realiza sobre dos cohortes de pacientes incluidos en el ensayo LLC-80.**

La primera cohorte está compuesta por los pacientes de la muestra de exploración que fueron **clasificados en el estadio pronóstico A** (Binet et. al. 1981). En la segunda cohorte se incluyen los individuos **clasificados en el estadio B**. En estas cohortes podemos estudiar el efecto del tratamiento asignado aleatoriamente (RAND) sobre la evolución de las variables respuesta.

Según se ha comentado en el capítulo 4, **el estudio de la evolución de los pacientes, en cada cohorte, consiste en la selección de un modelo jerárquico para explicar cada una de las variables respuesta**. La selección se realiza en dos fases. En la primera se busca el modelo para la covarianza de la respuesta, contrastando la homocedasticidad por tratamiento (RAND) de los diferentes componentes de la varianza -parámetros- incluidos en las matrices Λ y R_i . La segunda fase consiste en la selección de los factores

relacionados con la evolución media de la variable respuesta, partiendo de un modelo máximo inicial, mediante un proceso de eliminación (backward) basado en tests estadísticos -tests F parcial- que contrastan si la consideración en el modelo de cada factor explicativo ayuda a predecir el valor de la variable respuesta, cuando el resto de factores -explicativos- están todavía en el modelo.

El modelo máximo inicial contendrá, además del tiempo (T), todos los factores explicativos considerados en el modelo MANOVA3 -el sexo, la edad el número de áreas, I_NLYMP y ZONA-, el tratamiento recibido (RAND) y las interacciones de primer orden entre cada factor explicativo y el tiempo (T). Consideraremos también la inclusión en el modelo máximo de todas las interacciones de primer orden entre el resto de factores y el tratamiento, así como la correspondiente interacción de segundo orden con el tiempo (T); de estas últimas, sólo incluiremos en el modelo máximo inicial aquellas en las que resulte, para el test parcial, un nivel de significación, p , menor de 0'10.

El modelo seleccionado conlleva un conjunto de hipótesis sobre la evolución de la respuesta que, posteriormente, contrastaremos con los datos de la muestra C. Denominamos los modelos jerárquicos con las letras mayúsculas M y J seguidas de un guión (**MJ_**); después añadimos la letra inicial de la variable respuesta a explicar por el modelo: **L, H o P**; por último, dos números separados por un punto indican la **cohorte de pacientes** y el **orden correlativo** de los modelos estudiados en el proceso de selección.

I. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN EN EL ESTADIO PRONÓSTICO A.

La cohorte de individuos de la muestra de exploración clasificados en el estadio A de Binet et al. (1981) está formada por 247 pacientes, sobre los que se han efectuado 1.221 observaciones o balances hematológicos. La clasificación en el estadio A implica un mismo nivel de afectación del número de áreas -NROAREAS<3-, restringiendo la localización de los pacientes a las zonas 5, 6, 8 y 9 según los niveles de concentración de hemoglobina y número de plaquetas en el balance inicial.

En esta cohorte, la asignación aleatoria del tratamiento permite la comparación de la evolución de los pacientes mientras permanecieron en abstención terapéutica (136 pacientes) o fueron tratados con clorambucil (111 pacientes). A pesar de la asignación aleatoria, se encuentra diferencia significativa en la media de LOGNLYMP en el balance inicial de ambos grupos de tratamiento ($p=0'0327$), admitiendo varianzas iguales ($p=0'3294$). La media de LOGNLYMP en los pacientes tratados con clorambucil (2'93) es ligeramente superior a la de los pacientes en abstención (2'74). Ninguno de los contrastes de igualdad de varianzas y medias realizados sobre las otras variables a explicar -HB y PLAQ- resultaron significativos ($p>0'10$) en el balance inicial.

El modelo máximo inicial no incluye el factor NROAREAS debido a que todos los pacientes tienen el mismo nivel de afectación, pero incluye el tratamiento administrado (RAND) y las interacciones entre el tiempo de evolución (T) y el resto de los factores explicativos ya mencionados.

A. Evolución del Logaritmo del Número de Linfocitos (LOGNLYMP).

El modelo Jerárquico para explicar LOGNLYMP supone una relación lineal intraindividual entre la variable respuesta y el tiempo de seguimiento (T), pudiéndose calcular un término independiente (a) y una pendiente (b) diferentes para cada individuo en la cohorte. Comprobamos dicha suposición mediante la realización de diagramas de dispersión intraindividuales -LOGNLYMP frente a T para cada individuo i-. La suposición resulta aceptable en los pacientes en abstención terapéutica. Sin embargo, las personas tratadas con clorambucil presentan un valor muy alto de LOGNLYMP en el balance inicial, que resaltaba con respecto al resto de observaciones efectuadas una vez comenzado el tratamiento y donde la linealidad era aceptable de nuevo. Por esta razón, se ha tenido en cuenta el valor de la primera observación para construir los niveles iniciales del número de linfocitos (I_{NLYMP}), pero se prescinde de ella en el ajuste de los modelos intraindividuales de los pacientes tratados. Resulta obvio entonces que encontraremos un descenso significativo en la media de los términos independientes de los pacientes tratados con clorambucil respecto a los sujetos en abstención terapéutica. Consideraremos que la diferencia entre las estimaciones de LOGNLYMP al inicio del seguimiento (t_0) con cada procedimiento terapéutico, estima el descenso del número de linfocitos poco después de iniciado el tratamiento.

Se han contrastado diferentes modelos para la covarianza de LOGNLYMP mediante el test de la razón de verosimilitudes (TRV), partiendo del modelo con matrices Λ y R_i **diferentes según el tratamiento administrado**. Ninguno de los modelos ensayados resultó ser más apropiado que el de partida ($\alpha=0'05$). La estimación de los parámetros del modelo de covarianza de LOGNLYMP realizada por el método de máxima verosimilitud restringida, y los contrastes realizados a partir de las estimaciones (**Tabla 52**), permiten apreciar la existencia de variabilidad significativa ($\alpha=0'05$) en el término independiente y la pendiente de los modelos lineales intraindividuales. La variabilidad es siempre mayor entre los pacientes tratados con clorambucil.

Tabla 52. Estadio A: Modelo para la Covarianza de LOGNLYMP.

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		Z para H_0 : Parámetro=0	Prob> Z	
Clorambucil σ^2 (a)	1'0381	0'1895	0'6667	1'4096	5'48	0'0000	
	σ (a, b)	-0'0090	0'0049	-0'0187	0'0007	-1'83	0'0679
	σ^2 (b)	0'0007	0'0002	0'0004	0'0011	3'73	0'0002
Abstención σ^2 (a)	0'1756	0'0342	0'1086	0'2428	5'13	0'0000	
	σ (a, b)	0'0009	0'0013	-0'0016	0'0035	0'73	0'4629
	σ^2 (b)	0'0003	0'0001	0'0002	0'0006	3'23	0'0013
Clorambucil σ^2	0'1974	0'0164	0'1652	0'2297	12'00	0'0000	
Abstención σ^2	0'1596	0'0123	0'1353	0'1839	12'87	0'0000	

No se puede rechazar la hipótesis de que la covarianza entre a y b sea igual a 0 en ningún caso, pero su signo entre los tratados con clorambucil podría estar relacionado con la existencia de pendientes más positivas a medida que los términos independientes son más bajos. Esto podría significar que LOGNLYMP aumenta más rápidamente, cuanto menor es el nivel de linfocitos alcanzado tras el inicio del tratamiento con clorambucil.

También existe diferencia por tratamiento en el componente de la varianza considerado constante en todas las observaciones (σ^2). Dicho componente es también más elevado entre los pacientes que toman clorambucil.

En la **Tabla 53** resumimos el proceso de selección de los factores que debe considerar el modelo para explicar la evolución de LOGNLYMP en el estadio A. Como esperábamos, existe una diferencia significativa por tratamiento (RAND) en la media de los términos independientes de los modelos intraindividuales. Pero además, dicha media es significativamente diferente entre los pacientes según el nivel del número de linfocitos (I_NLYMP), dada la interacción entre RAND y I_NLYMP. La interacción de segundo orden con T identifica patrones de evolución diferentes -diferencias significativas en las pendientes- del logaritmo del número de linfocitos, en las clases definidas conjuntamente por RAND y I_NLYMP.

Tabla 53. Estadio A: Selección de factores asociados con la evolución de LOGNLYMP.

Fuente	Prob>F -tests F parcial-								
	MJ_L1.1	MJ_L1.2	MJ_L1.3	MJ_L1.4	MJ_L1.5	MJ_L1.6	MJ_L1.7	MJ_L1.8	MJ_L1.9
SEXO	0'9689	0'9351	0'9352	0'9352	0'9352	0'9292	'	'	'
EDAD	0'3359	0'3372	0'2487	0'2487	0'2487	0'2559	0'2437	'	'
I_NLYMP	0'0001	0'0001	0'0001	0'0001	0'0001	0'0002	0'0002	0'0001	0'0002
ZONA	0'1265	0'1276	0'1301	0'1301	0'1301	0'0721	0'0610	0'0706	'
RAND	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000
T	0'7635	0'7600	0'8231	0'8231	0'8231	0'9341	0'9329	0'9211	0'9568
T*SEXO	0'8860	'	'	'	'	'	'	'	'
T*EDAD	0'8054	0'7846	'	'	'	'	'	'	'
T*I_NLYMP	0'4233	0'4187	0'4280	'	'	'	'	'	'
T*ZONA	0'2637	0'2584	0'2602	0'2602	0'2602	'	'	'	'
T*RAND	0'2768	0'2765	0'2854	0'2854	'	'	'	'	'
I_NLYMP*RAND									
	0'0048	0'0047	0'0051	0'0051	0'0051	0'0037	0'0036	0'0025	0'0025
T*I_NLYMP*RAND									
	0'0926	0'0922	0'0792	0'0732	0'0166	0'0493	0'0491	0'0494	0'0482

El resultado no significativo del test parcial correspondiente al tiempo en el modelo MJ_L1.9 se debe a que el contraste considera el efecto del tiempo (T) de forma ortogonal a los efectos de la interacción de segundo orden entre T, I_NLYMP y RAND, mientras que el resultado significativo del test recogido en la **Tabla 54** es debido a que dicho test no considera los efectos de la interacción.

En la **Tabla 54** se presentan las estimaciones y contrastes de los efectos del modelo MJ_L1.9 para la evolución de LOGNLYMP en el estadio A.

Tabla 54. Estimación y Contraste de los efectos del modelo para LOGNLYMP (MJ_L1.9).

Parámetro		Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		T para H ₀ : Parámetro=0	Prob> T
INTERCEPT		2'6266	0'0489	2'5305	2'7226	53'67	0'0000
I_NLYMP	>=80	2'1450	0'3173	1'5223	2'7677	6'76	0'0000
	[40-80[1'2996	0'1824	0'9417	1'6575	7'12	0'0000
	<40	0'0000	'	'	'	'	'
RAND	Clor.	-1'5476	0'1322	-1'8070	-1'2883	-11'71	0'0000
	Abst.	0'0000	'	'	'	'	'
T		0'0101	0'0026	0'0050	0'0152	3'89	0'0001
I_NLYMP*RAND							
	>=80 Clor.	-1'6616	0'9567	-3'5388	0'2156	-1'74	0'0827
	>=80 Abst.	0'0000	'	'	'	'	'
	[40-80[Clor.	-1'2535	0'4067	-2'0515	-0'4554	-3'08	0'0021
	[40-80[Abst.	0'0000	'	'	'	'	'
	<40 Clor.	0'0000	'	'	'	'	'
	<40 Abst.	0'0000	'	'	'	'	'
T*I_NLYMP*RAND							
	>=80 Clor.	0'0171	0'0373	-0'0562	0'0904	0'46	0'6470
	>=80 Abst.	-0'0522	0'0239	-0'0990	-0'0053	-2'19	0'0291
	[40-80[Clor.	-0'0180	0'0115	-0'0406	0'0046	-1'56	0'1180
	[40-80[Abst.	-0'0001	0'0100	-0'0197	0'0195	-0'01	0'9924
	<40 Clor.	-0'0100	0'0048	-0'0193	-0'0006	-2'08	0'0374
	<40 Abst.	0'0000	'	'	'	'	'

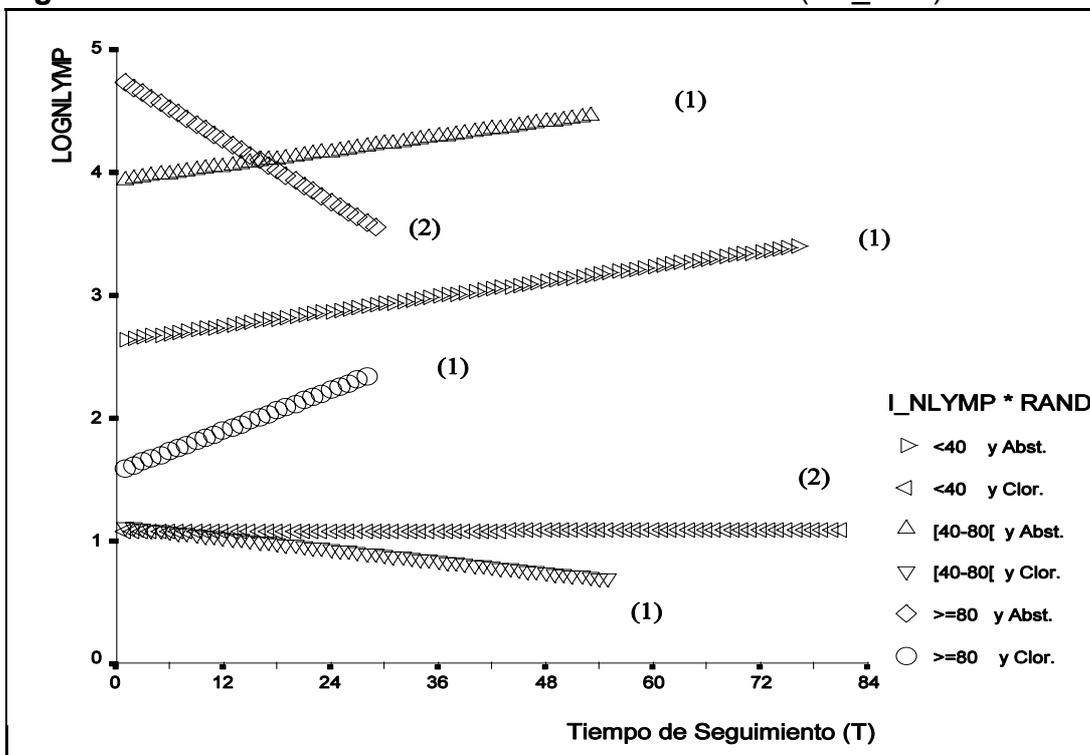
La estimación de la media de la variable respuesta LOGNLYMP al comienzo del seguimiento es más baja para los pacientes tratados con clorambucil. Esto es debido al fuerte descenso en el nivel de linfocitos después de comenzar el tratamiento, y a la forma en que se ha construido el modelo. Dicho descenso es diferente según los niveles de I_NLYMP. En general, resulta que el descenso inicial es más acusado cuando los niveles de I_NLYMP son más elevados.

Tras el descenso inicial, los niveles de LOGNLYMP permanecen estables en los individuos tratados con un nivel de linfocitos de partida inferior a 40, e incluso parecen descender, cuando el nivel inicial está en el intervalo [40-80[. Sin embargo, la pendiente de evolución de los individuos no tratados es positiva y prácticamente idéntica en ambos grupos, aumentando los linfocitos en el tiempo.

Existen cinco pacientes con más de 80×10^9 linfocitos / litro en el estadio A, por lo que no se pueden realizar afirmaciones rotundas sobre la evolución en dichos individuos. Los resultados parecen señalar una caída inicial muy importante en el número de linfocitos de los pacientes tratados, acompañada de un lento aumento posterior. Por el contrario, los pacientes en abstención y con nivel de linfocitos mayor de 80 presentan una pendiente de evolución negativa, con descenso en el número inicial de linfocitos.

En la **Figura 45** se presenta la evolución media de LOGNLYMP según el modelo MJ_L1.9, distinguiendo el nivel inicial del número de linfocitos y el tratamiento administrado a los pacientes. Señalamos con el número uno las rectas cuya pendiente no es significativamente diferente de la correspondiente a la clase de referencia (NLYMP<40 en abstención terapéutica).

Figura 45. Estadio A: Evolución Media de LOGNLYMP (MJ_L1.9).

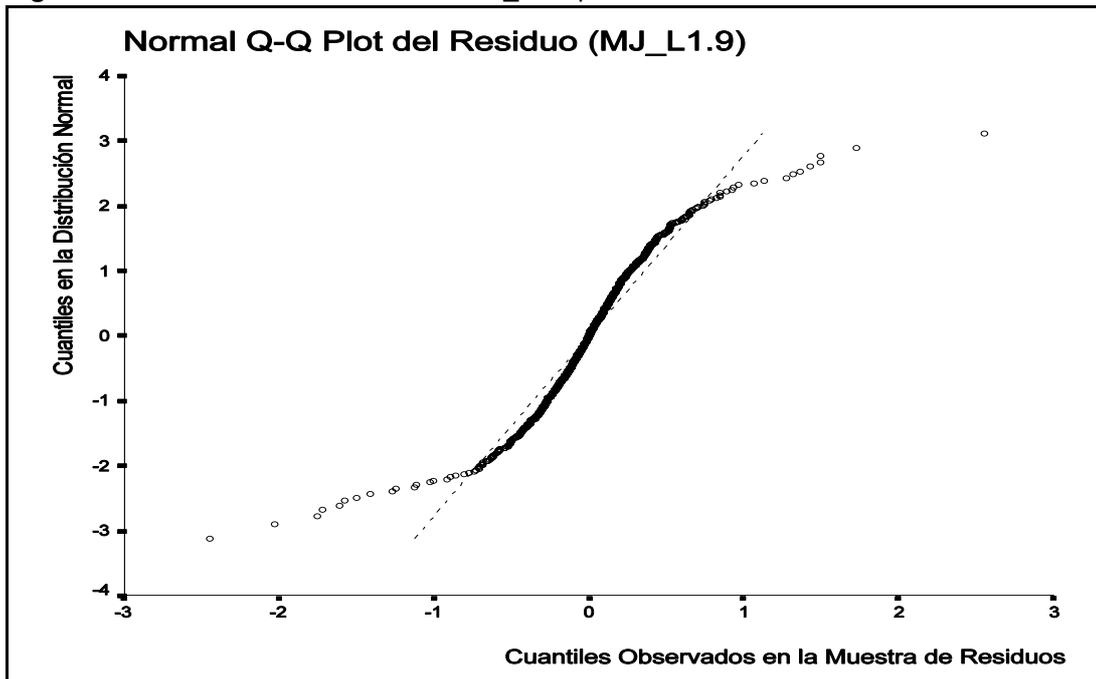


(1) indica que no existe diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.
 (2) indica diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.

Para comprobar si son aceptables las suposiciones de normalidad, homocedasticidad, e independencia condicionada, en las que se basa el modelo jerárquico MJ_L1.9, realizamos diagramas de normalidad (**Figura 46**) y de dispersión del residuo frente a la predicción (**Figura 47**) y el tiempo de seguimiento (**Figura 48**).

La correlación entre los cuantiles observados en la muestra de residuos y los de la distribución normal es de 0'95 (**Figura 46**), no obstante el contraste de normalidad resulta significativo.

Figura 46. Normalidad del Residuo de MJ_L1.9 para la evolución de LOGNLYMP



Aparte de algunas observaciones que pueden ser consideradas “outliers”, el diagrama de dispersión de los residuos frente a la predicción del modelo MJ_L1.9 no nos permite apreciar ningún patrón definido claramente y asociado con heterocedasticidad. Lo mismo ocurre con la representación del residuo frente al tiempo de seguimiento.

Figura 47. Dispersión del Residuo frente a la Predicción de LOGNLYMP (MJ_L1.9).

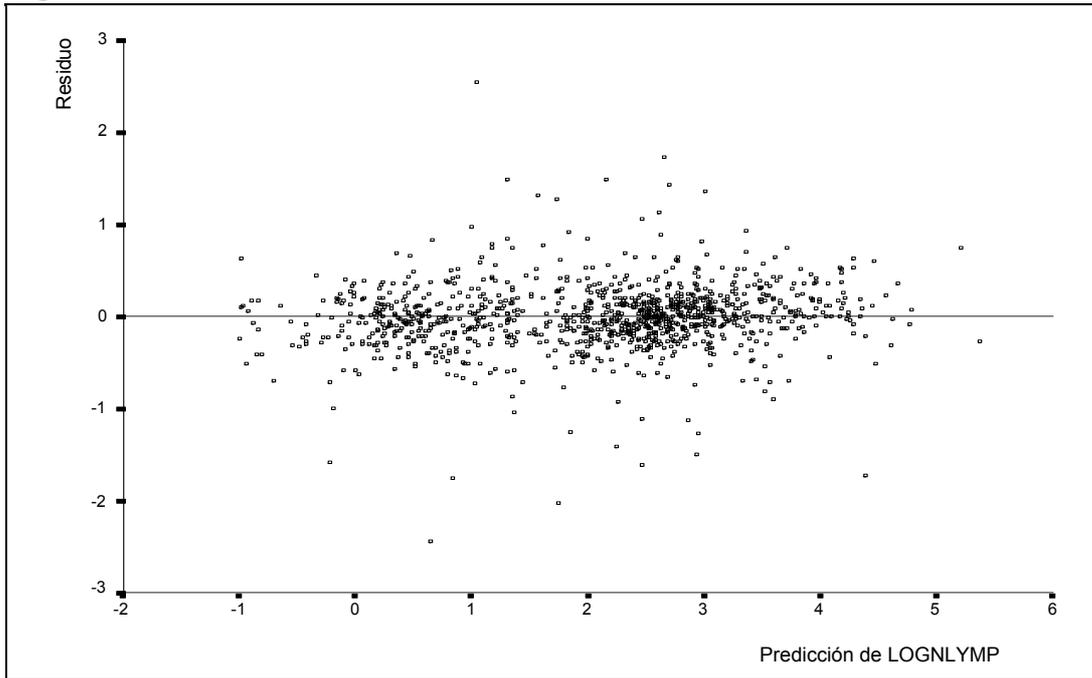
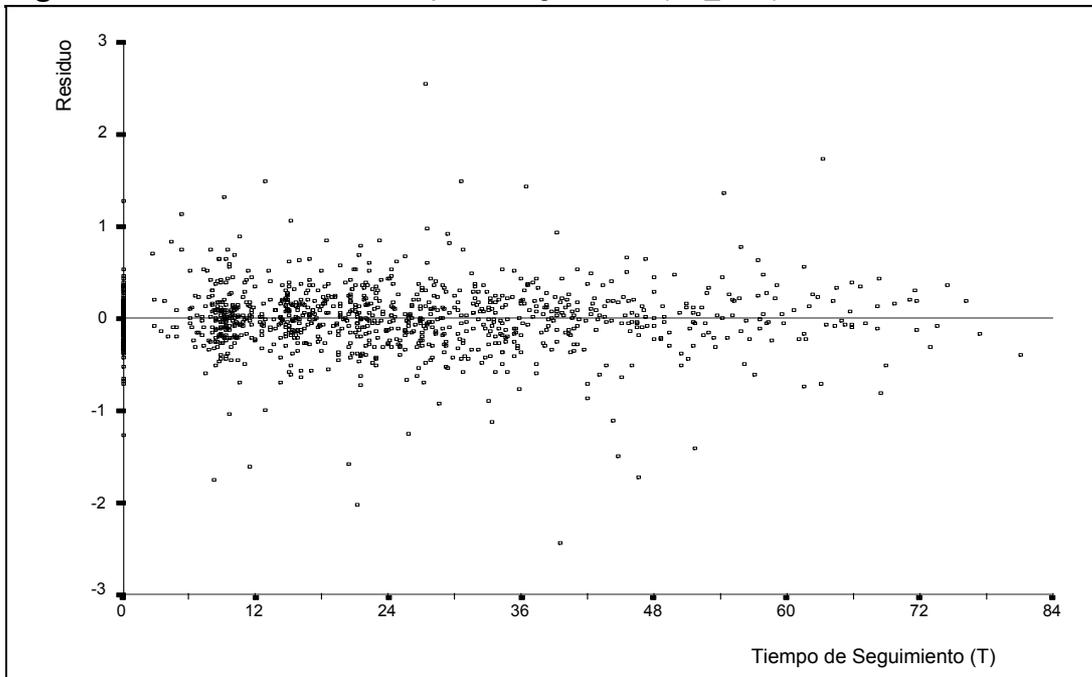


Figura 48. Residuo frente al Tiempo de Seguimiento (MJ_L1.9).



B. Evolución de la Concentración de Hemoglobina (HB).

Los diagramas de dispersión permiten comprobar que la linealidad de los modelos intraindividuales resulta aceptable, independientemente del tratamiento administrado. Contrastamos distintos modelos para la covarianza de HB utilizando el test para la razón de verosimilitudes (TRV), partiendo del modelo con matrices Λ y R_i diferentes por tratamiento (RAND). La covarianza de los términos independientes y las pendientes de los modelos intraindividuales no resulta diferente de cero en ninguno de los grupos de tratamiento, por lo cual estimamos un nuevo modelo sin esos parámetros. El TRV para este modelo no resulta significativo ($\alpha=0'05$) y en consecuencia no incluimos $\sigma(a, b)$ en el modelo. La estimación de los parámetros del modelo seleccionado se recoge en la **Tabla 55**.

Tabla 55. Estadio A: Modelo para la Covarianza de HB.

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		Z para H_0 : Parámetro=0	Prob> Z
Clorambucil $\sigma^2 (a)$	37'8443	10'2128	17'8275	57'8612	3'71	0'0002
$\sigma^2 (b)$	0'0529	0'0178	0'0180	0'0880	2'97	0'0030
Abstención $\sigma^2 (a)$	70'2586	12'4619	45'8337	94'6837	5'64	0'0000
$\sigma^2 (b)$	0'0901	0'0271	0'0369	0'1435	3'32	0'0009
Clorambucil σ^2	97'2494	6'7074	84'1031	110'3959	14'50	0'0000
Abstención σ^2	54'8972	4'0385	46'9819	62'8126	13'59	0'0000

Los contrastes realizados nos permiten afirmar que existe una variabilidad significativa en los términos independientes (a) y las pendientes (b) de los modelos lineales intraindividuales. El tratamiento con clorambucil disminuye la variabilidad de los primeros, pero aumenta el componente de la varianza de HB considerado constante en todas las observaciones (σ^2). La variación de las pendientes puede no ser diferente según el tratamiento.

En la **Tabla 56** resumimos el proceso de selección de los efectos fijos que deben considerarse en el modelo de evolución de la concentración de hemoglobina en los pacientes clasificados en el estadio A.

Tabla 56. Estadio A: Selección de factores asociados con la evolución de HB.

Fuente	Prob>F -tests F parcial-									
	MJ_H1.1	MJ_H1.2	MJ_H1.3	MJ_H1.4	MJ_H1.5	MJ_H1.6	MJ_H1.7	MJ_H1.8	MJ_H1.9	MJ_H1.10
SEXO	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000
EDAD	0'5964	0'5865	0'5151	0'4950	0'4950	0'1362	0'1362	0'1414	0'1505	'
I_NLYMP	0'9062	0'7725	0'8143	0'8156	0'8156	0'8299	0'8299	'	'	'
ZONA	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000
RAND	0'0510	0'0436	0'1402	0'1409	0'1409	0'1427	0'1427	0'1526	'	'
T	0'1819	0'0271	0'0252	0'0183	0'0183	0'0065	0'0065	0'0068	0'0071	0'0074
T*SEXO	0'4600	0'4589	0'4554	'	'	'	'	'	'	'
T*EDAD	0'1158	0'1258	0'1325	0'1527	0'1527	'	'	'	'	'
T*I_NLYMP	0'8803	'	'	'	'	'	'	'	'	'
T*ZONA	0'4525	0'3413	0'3652	0'3650	'	'	'	'	'	'
T*RAND	0'3063	0'3261	0'1417	0'1379	0'1378	0'1108	'	'	'	'
ZONA*RAND	0'5821	0'5507	'	'	'	'	'	'	'	'
T*ZONA*RAND	0'0850	0'0858	0'0868	0'0796	0'0215	0'0162	0'0252	0'0258	0'0286	0'0248

Existen diferencias significativas en la media de los términos independientes de los modelos intraindividuales según el sexo y la localización del paciente por ZONA. Además, el modelo seleccionado considera que la interacción entre la ZONA y el tratamiento asignado (RAND) identifica diferentes patrones de evolución de la concentración de hemoglobina.

En la **Tabla 57** se encuentran las estimaciones de los efectos fijos -parámetros- del modelo jerárquico MJ_H1.10 para la evolución de HB en los pacientes clasificados en el estadio A.

Tabla 57. Estimación y Contraste de los efectos del modelo para HB (MJ_H1.10).

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		T para H ₀ : Parámetro=0	Prob> T	
INTERCEPT	136'7393	1'1086	134'5642	138'9144	123'34	0'0000	
SEXO							
Hombre	11'2990	1'2358	8'8744	13'7235	9'14	0'0000	
Mujer	0'0000	'	'	'	'	'	
ZONA							
5	-25'7106	3'0763	-31'7462	-19'6750	-8'36	0'0000	
6	-23'1909	2'7875	-28'6599	-17'7218	-8'32	0'0000	
8	-0'9076	1'3983	-3'6511	1'8359	-0'65	0'5164	
9	0'0000	'	'	'	'	'	
T	-0'1683	0'0535	-0'2733	-0'0634	-3'15	0'0017	
T*ZONA*RAND							
5	Clor.	0'3662	0'1707	0'0312	0'7012	2'14	0'0322
5	Abst.	-0'0959	0'3568	-0'7960	0'6041	-0'27	0'7881
6	Clor.	0'3076	0'1871	-0'0596	0'6747	1'64	0'1005
6	Abst.	-0'2777	0'2084	-0'6866	0'1312	-1'33	0'1830
8	Clor.	-0'1516	0'0750	-0'2986	-0'0004	-2'02	0'0437
8	Abst.	-0'0926	0'0836	-0'2565	0'0714	-1'11	0'2681
9	Clor.	-0'0585	0'0703	-0'1964	0'0794	-0'83	0'4054
9	Abst.	0'0000	'	'	'	'	'

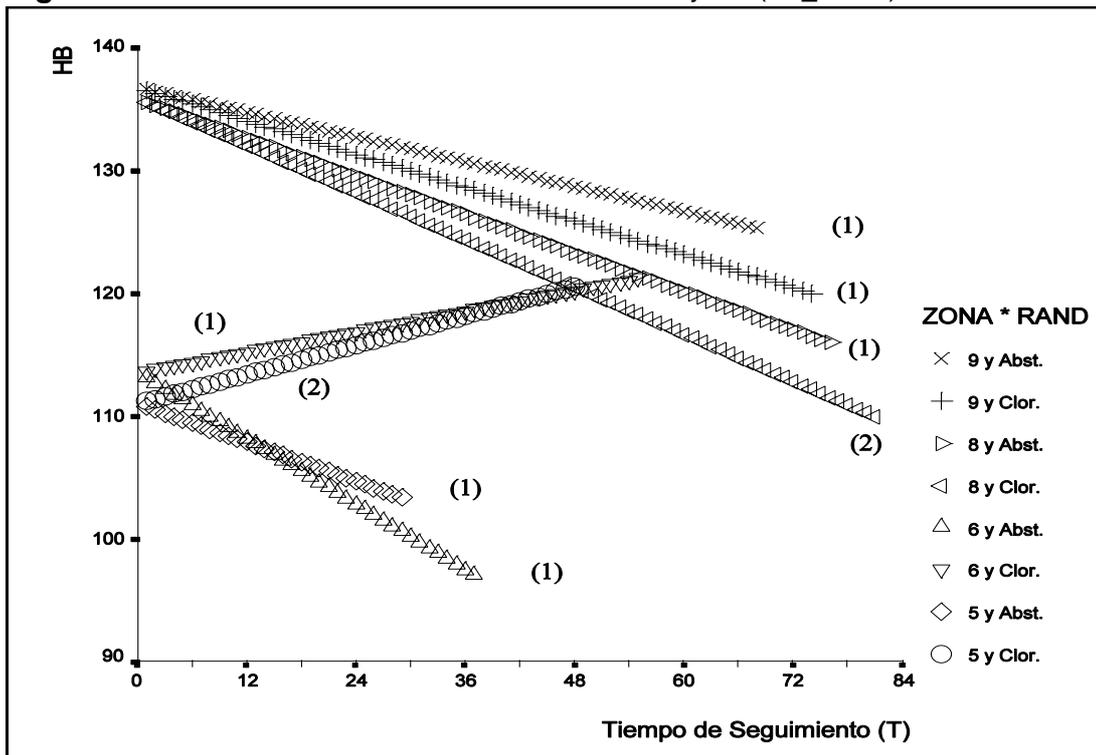
La pendiente de evolución de HB en los pacientes localizados inicialmente en la ZONA 9 y sin tratamiento es negativa. La concentración de hemoglobina disminuye con el tiempo, no existiendo diferencia significativa entre las pendientes según el tratamiento; sin embargo, el descenso estimado de la hemoglobina es más rápido en los individuos tratados con clorambucil. Algo muy similar ocurre con los pacientes localizados en ZONA 8. Aunque no existe diferencia significativa entre las pendientes de los individuos tratados con clorambucil y los que permanecen en abstención terapéutica, el descenso es más acusado entre los tratados.

La situación cambia de manera importante cuando consideramos los pacientes localizados en zona 5 y 6. En estos pacientes el tratamiento invierte el signo de la pendiente, aunque en la zona seis la diferencia no es significativa. Para la zona cinco, la media de la pendiente de evolución de los individuos tratados con clorambucil es significativamente diferente de la correspondiente a los individuos en abstención terapéutica.

En la **Figura 49** representamos la evolución de la media de HB según el modelo MJ_H1.10, distinguiendo la localización inicial de los pacientes por ZONA y el tratamiento administrado RAND. La representación corresponde al sexo femenino. En los hombres sólo hay que sumar 11'3 en el instante inicial, porque las pendientes son iguales por sexo. Las pendientes de las rectas

señaladas con el número (1) no son significativamente diferentes de la correspondiente a la clase de referencia (zona nueve en abstención terapéutica).

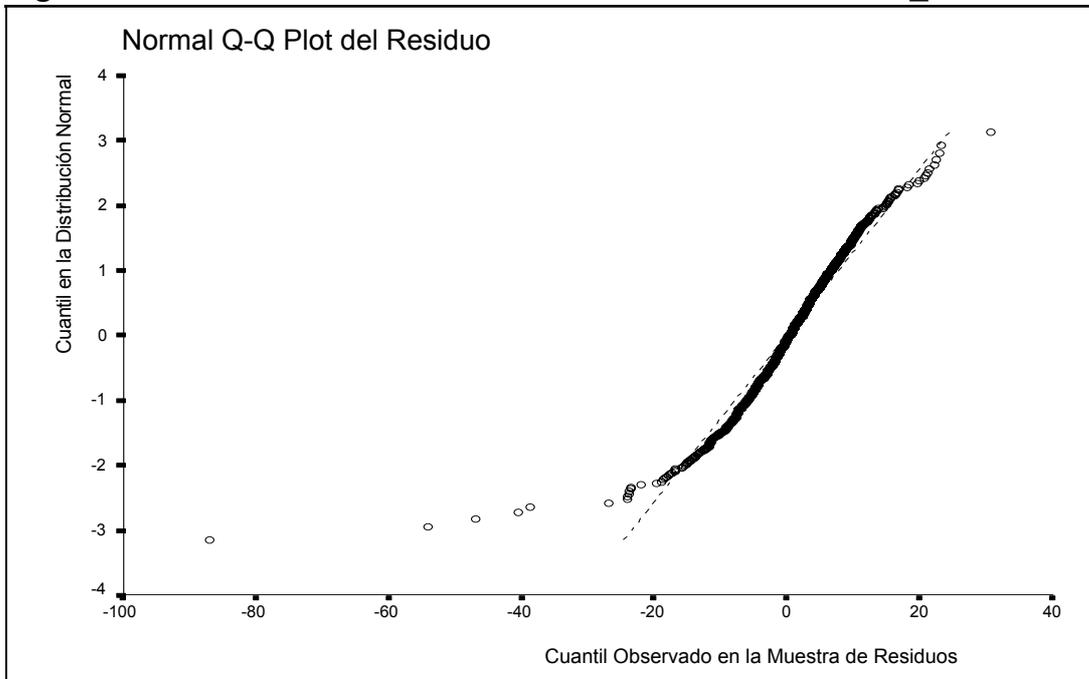
(Figura 49. Estadio A: Evolución Media de HB en las mujeres (MJ_H1.10).



1) indica que no existe diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.
 (2) indica diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.

Estudiamos la normalidad de los residuos -diferencia entre el valor observado de HB y la predicción- del modelo jerárquico seleccionado (MJ_H1.10) comparando los cuantiles, mediante el diagrama de la Figura 50. Los tests de normalidad realizados sobre el residuo resultan significativos ($\alpha=0'10$); la correlación entre los cuantiles observados en la muestra de residuos y los cuantiles de la distribución normal es 0'95.

Figura 50. Estadio A: Normalidad del Residuo en el Modelo MJ_H1.10.



Los diagramas de dispersión de los residuos del modelo MJ_H1.10 frente a la predicción de HB (**Figura 51**) y el tiempo de seguimiento (**Figura 52**) no muestran ningún patrón claro de heterocedasticidad o correlación entre los residuos y el tiempo. Sin embargo, podemos apreciar cinco observaciones con valores muy extremos, que son “outliers”, y que ya se detectaban en la **Figura 50**. Las estimaciones del modelo no se ven afectadas cuando prescindimos de ellas.

Figura 51. Estadio A: Dispersión del Residuo frente a la Predicción de HB (MJ_H1.10).

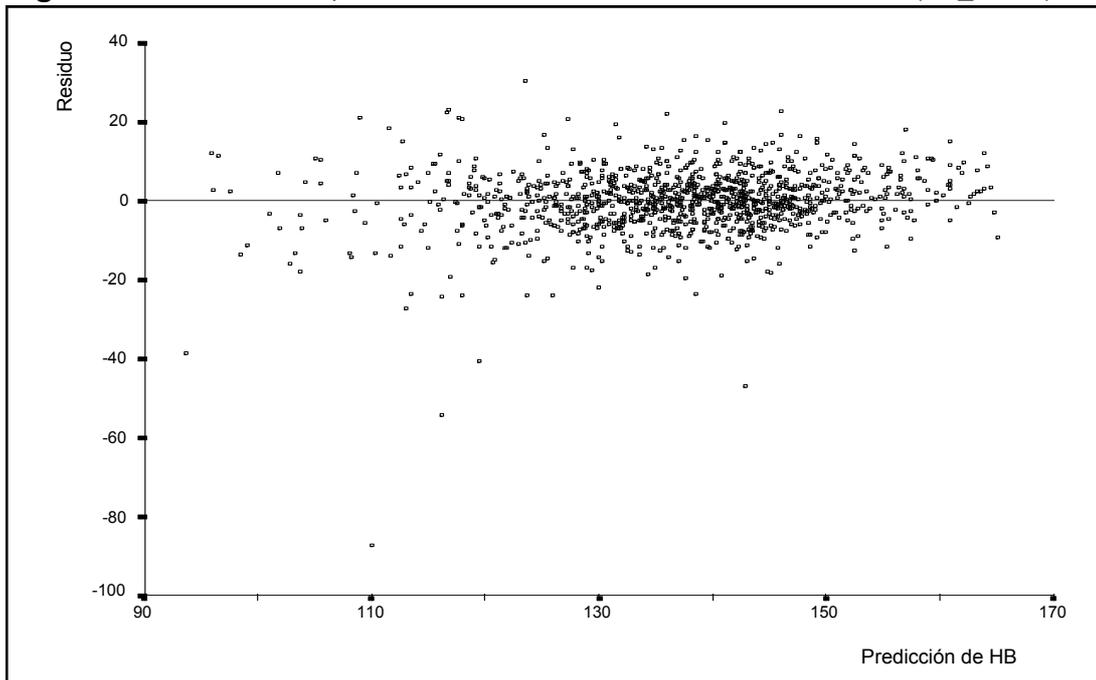
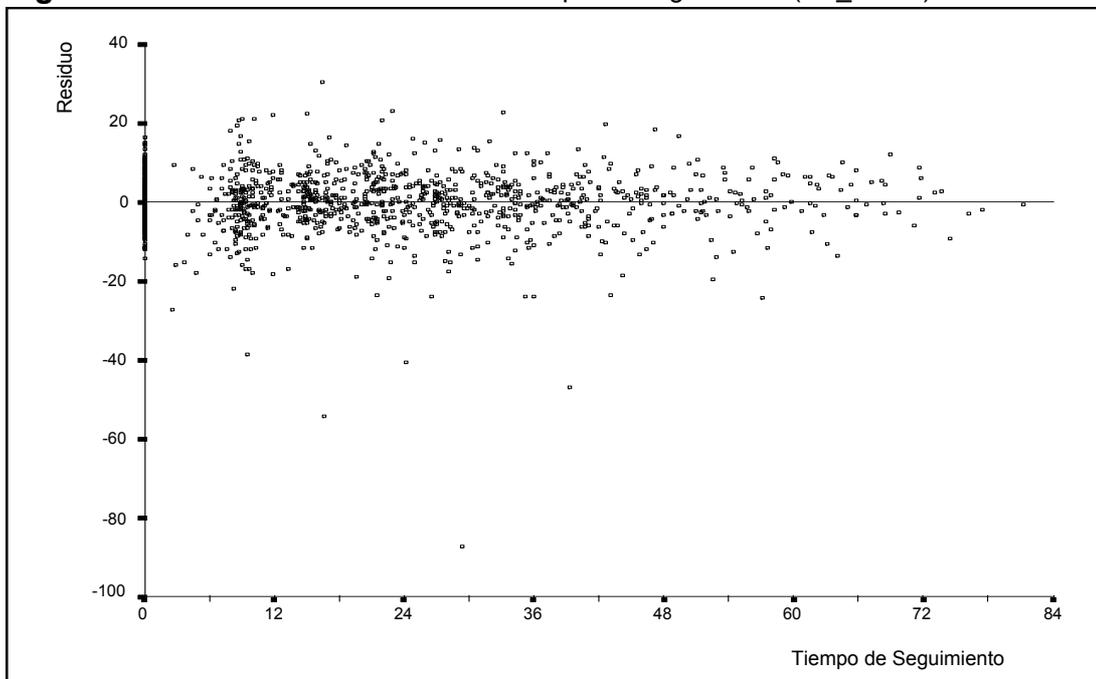


Figura 52. Estadio A: Residuo frente al Tiempo de Seguimiento (MJ_H1.10).



C. Evolución del Número de Plaquetas (PLAQ)

Los diagramas de dispersión realizados permiten considerar razonable la suposición de linealidad de los modelos intraindividuales para PLAQ en ambos grupos de tratamiento.

El primer modelo para la covarianza, en los individuos de la cohorte de pacientes clasificados en el estadio A, considera matrices Λ y R_i diferentes en cada grupo de tratamiento. Los parámetros de covarianza entre el término independiente (a) y la pendiente (b) de los modelos lineales intraindividuales $-\sigma(a, b)$ no resultan significativamente diferente de 0 ($\alpha=0.05$). Admitido que dichos parámetros son iguales a cero, se contrasta la homocedasticidad para Λ en los dos grupos de tratamiento con resultado no significativo. La **Tabla 58** recoge las estimaciones de los parámetros y contrastes correspondientes para el último modelo, que resulta ser el mejor de los contrastados mediante el TRV. Es interesante resaltar la existencia de variabilidad importante en a y b en dichos modelos intraindividuales. Además, el componente de la varianza de PLAQ (σ^2) considerado constante en el tiempo es mayor en los individuos tratados con clorambucil, lo cual significa que el tratamiento incrementa la variabilidad de PLAQ.

Tabla 58. Estadio A: Modelo para la Covarianza de PLAQ.

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		Z para H_0 : Parámetro=0	Prob> Z
σ^2 (a)	1582'0938	197'6207	1194'76	1969'42	8'01	0'0000
σ^2 (b)	0'8564	0'2101	0'4445	1'2684	4'08	0'0000
Clorambucil σ^2	1552'4415	105'9239	1344'83	1760'04	14'66	0'0000
Abstención σ^2	1169'9703	81'7224	1009'79	1330'14	14'32	0'0000

El modelo para la evolución del número de plaquetas se ha seleccionado con los criterios previamente expuestos. La **Tabla 59** resume el proceso de selección. El único factor que define patrones diferentes de evolución -medias de la pendiente en el tiempo significativamente diferentes- es la localización de los pacientes según el factor ZONA.

Tabla 59. Estadío A: Selección de los factores asociados con la Evolución de PLAQ.

Fuente	Prob > F -tests F parciales-											
	MJ_P1.1	MJ_P1.2	MJ_P1.3	MJ_P1.4	MJ_P1.5	MJ_P1.6	MJ_P1.7	MJ_P1.8	MJ_P1.9	MJ_P1.10	MJ_P1.11	MJ_P1.12
SEXO	0'4836	0'4836	0'4729	0'4729	0'4756	0'4757	0'4858	0'5226	0'5929	'	'	'
EDAD	0'2763	0'2763	0'2691	0'2691	0'2836	0'2836	0'3104	0'2102	0'2358	0'2176	0'1613	'
I_NLYMP	0'4895	0'4895	0'4831	0'4831	0'5213	0'5213	0'2124	0'2120	0'2312	0'2215	'	'
ZONA	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000
RAND	0'0287	0'0287	0'0259	0'0259	0'0311	0'0311	0'0275	0'0262	0'0036	0'0033	0'0028	0'0029
T	0'0009	0'0009	0'0009	0'0009	0'0008	0'0008	0'0001	0'0001	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000
T*SEXO	0'5587	0'5587	0'5554	0'5554	0'5604	'	'	'	'	'	'	'
T*EDAD	0'9002	0'9002	0'9001	'	'	'	'	'	'	'	'	'
T*I_NLYMP	0'2058	0'2058	0'2064	0'2064	0'2091	0'2091	'	'	'	'	'	'
T*ZONA	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000
T*RAND	0'9903	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'
SEXO*RAND	0'9083	0'9083	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'
EDAD*RAND	0'7609	0'7609	0'7652	0'7653	'	'	'	'	'	'	'	'
T*SEXO*RAND	0'0208	0'0208	0'0160	0'0160	0'0157	0'0407	0'0560	0'1198	'	'	'	'
T*EDAD*RAND	0'0144	0'0144	0'0145	0'0594	0'0728	0'0728	0'0983	'	'	'	'	'

En la **Tabla 60** se encuentran las estimaciones y contrastes de los parámetros del modelo MJ_P1.12, seleccionado para explicar la evolución de PLAQ en los pacientes del estadio A. Al comienzo del seguimiento, la media de PLAQ es más alta en los pacientes localizados en las zonas 6 y 9, respecto a los pacientes en zonas 5 y 8, lo que es lógico según la definición de las zonas. Existe además un efecto significativo del tratamiento sobre dicha media, que la sitúa siempre en valores mas bajos entre los individuos tratados con clorambucil, lo que permite interpretar que el clorambucil disminuye el recuento plaquetario antes de la primera revisión o balance de seguimiento.

Tabla 60. Estimación y Contraste de los efectos del modelo para PLAQ (MJ_P1.12).

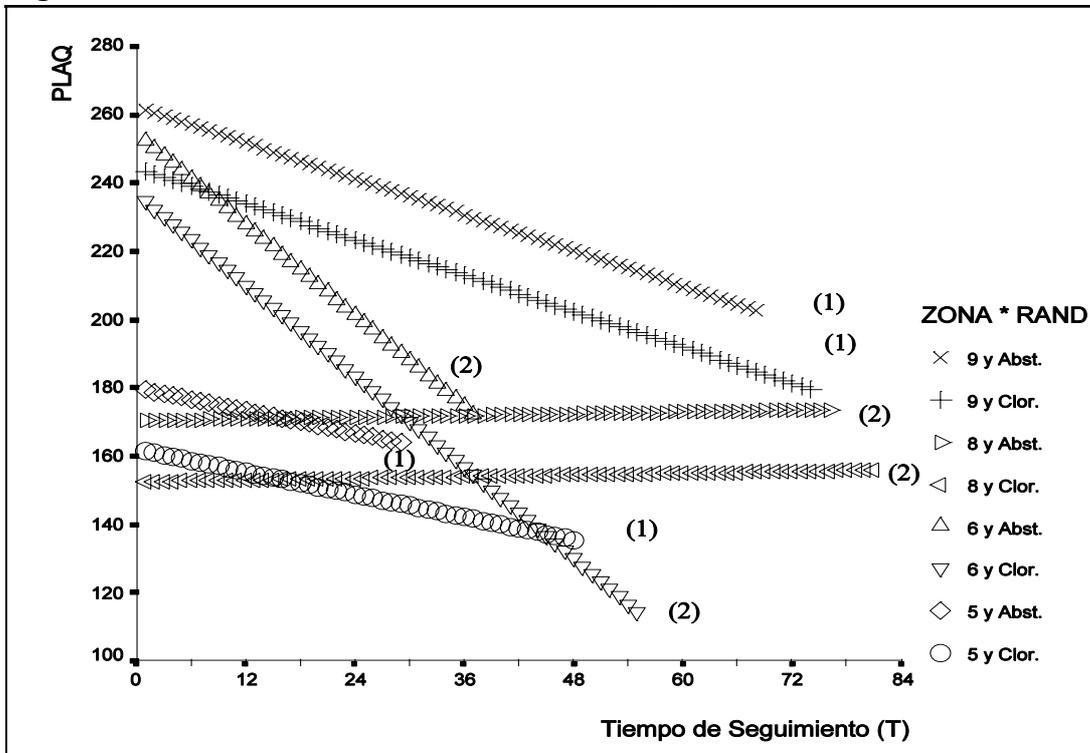
Parámetro		Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		T para H ₀ : Parámetro=0	Prob> T
INTERCEPT		262'2507	5'1132	252'2187	272'2827	51'29	0'0000
ZONA	5	-82'3361	14'8953	-111'5600	-53'1117	-5'53	0'0000
	6	7'5106	13'5214	-19'0182	34'0394	0'56	0'5787
	8	-91'8469	6'8631	-105'3120	-78'3816	-13'38	0'0000
	9	0'0000	'	'	'	'	'
RAND	Clor.	-17'8936	6'0008	-29'6671	-6'1201	-2'98	0'0029
	Abst.	0'0000	'	'	'	'	'
T		-0'8762	0'1468	-1'1643	-0'5881	-5'97	0'0000
T*ZONA	5	0'3248	0'6347	-0'9204	1'5700	0'51	0'6089
	6	-1'3492	0'5814	-2'4898	-0'2085	-2'32	0'0205
	8	0'9180	0'2319	0'4630	1'3729	3'96	0'0001
	9	0'0000	'	'	'	'	'

La media del número de plaquetas de los pacientes localizados en la ZONA 9 inicial disminuye con el tiempo, con pendiente que no se diferencia de la que presentan los individuos localizados de ZONA 5, pero que es significativamente diferente de la que presentan los individuos de zona 6 u 8.

En la ZONA 8 se puede hablar de estabilidad del número de plaquetas en el tiempo, mientras que la caída de plaquetas es muy importante entre los individuos localizados en ZONA 6.

En la **Figura 53** se presenta la evolución de la media de PLAQ de acuerdo al modelo MJ_P1.12, según la localización inicial de los pacientes por el factor ZONA y el tratamiento seguido, pudiéndose constatar la evolución paralela de la media de PLAQ en los pacientes, hayan sido estos tratados o no, pero la recta de evolución correspondiente a los individuos tratados con clorambucil se sitúa siempre en valores inferiores. Las pendientes de las rectas señaladas con el número (1) no son significativamente diferentes de la correspondiente a la clase de referencia.

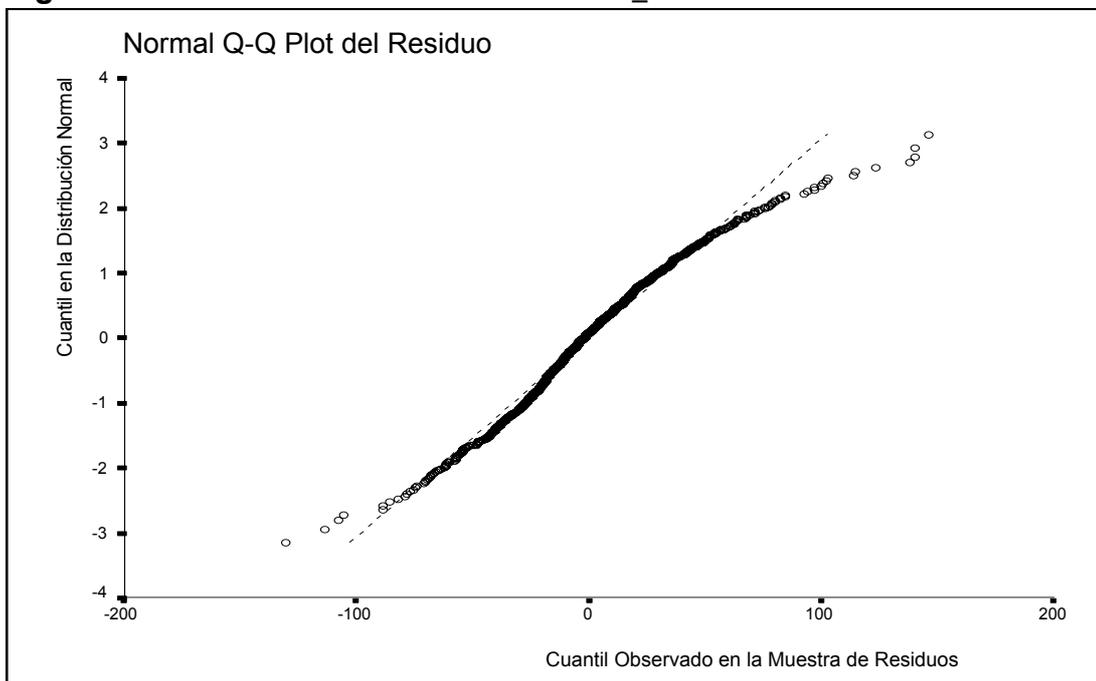
Figura 53. Estadio A: Evolución Media de PLAQ (MJ_P1.12).



(1) indica que no existe diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.
 (2) indica diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.

Los tests de ajuste a la normal efectuados sobre el residuo -diferencia entre el valor observado de PLAQ y la predicción- resultan ser significativos ($\alpha=0'10$). El diagrama de normalidad se presenta en la **Figura 54**; la correlación entre los cuantiles observados en la muestra y los cuantiles correspondientes de la distribución normal es 0'99.

Figura 54. Normalidad del Residuo del Modelo MJ_P1.12.



Los diagramas de dispersión del residuo correspondiente al modelo MJ_P1.12 se representan frente a la predicción (**Figura 55**) y el tiempo de seguimiento (**Figura 56**), para diagnosticar la posible heterocedasticidad de la varianza de PLAQ. No se aprecian patrones de heterocedasticidad ni tampoco de correlación entre los residuos y el tiempo de seguimiento.

Figura 55. Residuo frente a la Predicción de PLAQ (MJ_P1.12).

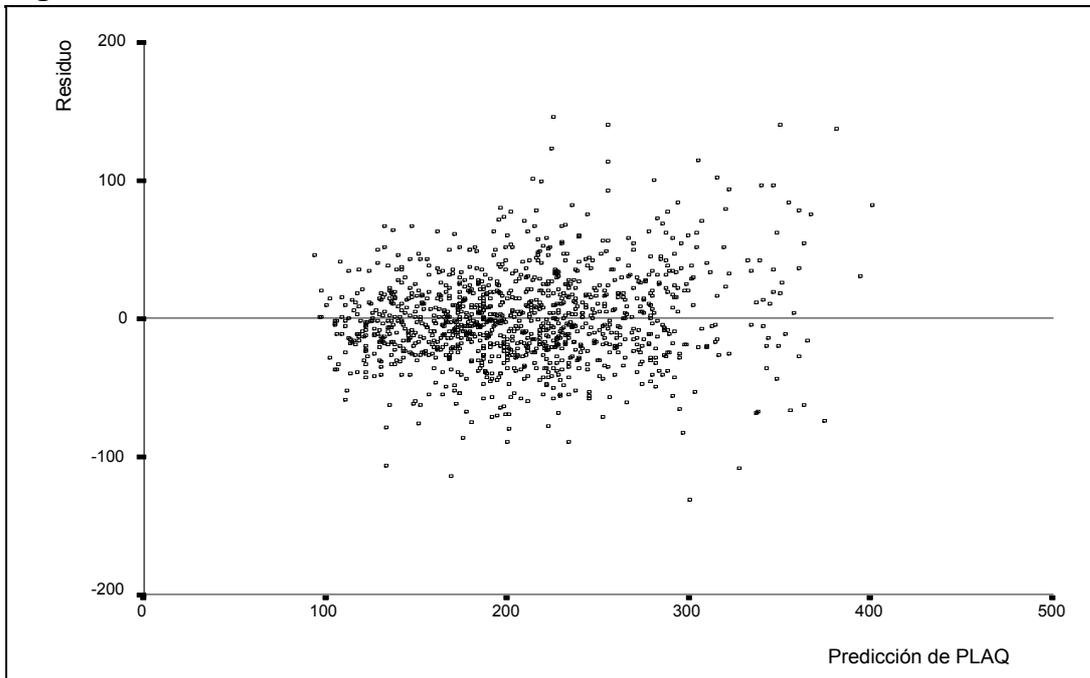
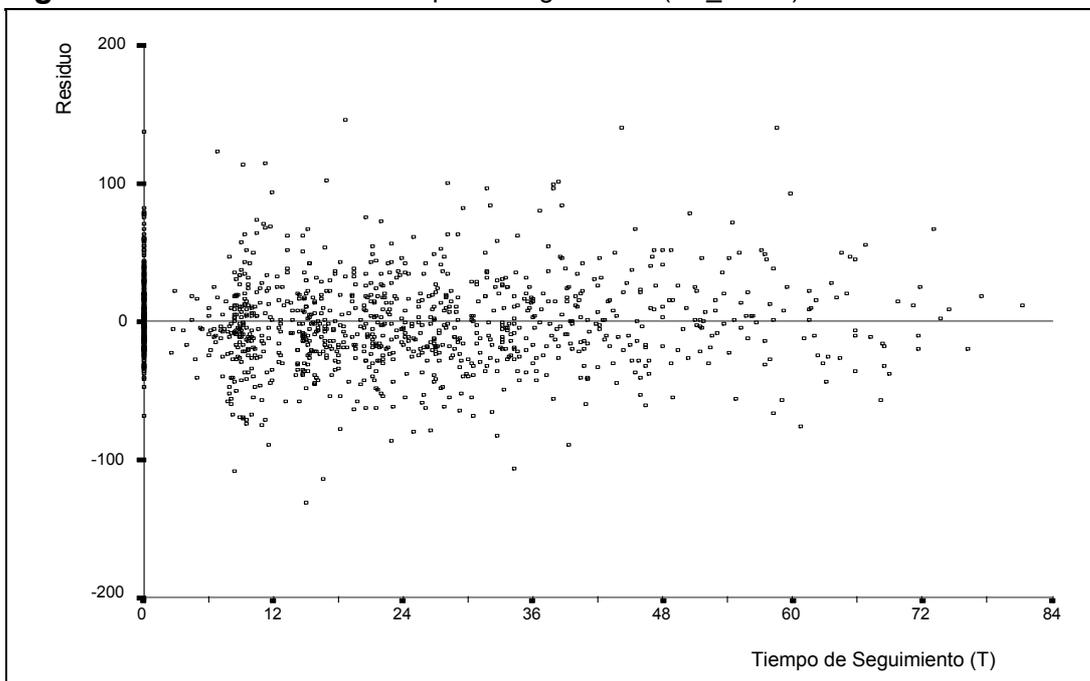


Figura 56. Residuo frente al Tiempo de Seguimiento (MJ_P1.12).



II. ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN EN EL ESTADIO PRONÓSTICO B.

La cohorte de individuos de la muestra de exploración clasificados en el estadio B de Binet et al. (1981) está formada por 92 pacientes, sobre los cuales se han efectuado 369 observaciones o balances hematológicos. Estos pacientes se caracterizan por presentar una afectación de 3 o más áreas -NROAREAS \geq 3-, con unos niveles de HB y PLAQ superiores a 100 en ambos casos. Esto último provoca la restricción en la localización de los pacientes según el factor explicativo ZONA, que sólo puede tomar los valores 5, 6, 8 y 9. Dicha restricción ya la habíamos observado en la primera cohorte con los pacientes clasificados en el estadio A. Ahora, consideraremos también NROAREAS, con dos clases: los pacientes que tienen tres áreas afectadas y los que presentan afectación de cuatro o más.

En esta cohorte, la asignación aleatoria de tratamiento permite comparar la evolución de las variables respuesta entre los pacientes tratados con clorambucil y COP. No se encuentran diferencias significativas en la media o la varianza de cada variable respuesta medida en el balance inicial ($\alpha=0.05$), en los dos grupos de tratamiento.

A. Evolución del Logaritmo del Número de Linfocitos (LOGNLYMP).

Por razones idénticas a las expuestas en el apartado I, no se incluye la observación de LOGNLYMP correspondiente al balance inicial. Contrastamos diferentes modelos para la covarianza de la respuesta utilizando el test de la razón de verosimilitudes, siendo seleccionado el que se resume en la **Tabla 61**. No es necesario en este caso incluir en el modelo parámetros diferentes según el tratamiento administrado a los pacientes. Además, la covarianza entre las pendientes (b) y los términos independientes (a) de los modelos intraindividuales puede admitirse que es igual a cero.

Tabla 61. Estadio B: Modelo para la Covarianza de LOGNLYMP.

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		Z para H_0 : Parámetro=0	Prob> Z
σ^2 (a)	1'37987	0'3014	0'7890	1'9708	4'58	0'0000
σ^2 (b)	0'0023	0'0007	0'0009	0'0037	3'14	0'0017
σ^2	0'23246	0'0290	0'1755	0'2894	8'00	0'0000

Existe variabilidad significativa en los términos independientes y las pendientes de evolución en el tiempo. Una estimación de la desviación estándar del logaritmo del número de linfocitos se puede obtener a partir de la varianza (σ^2), considerada constante en el tiempo e igual para todos los individuos de la cohorte (0'48) .

En la **Tabla 62** se resume el proceso de selección de los factores asociados con la evolución de LOGNLYMP en los pacientes del estadio B.

Ninguno de los factores iniciales considerados identifica grupos de pacientes con diferente patrón de evolución en el tiempo.

Tabla 62. Estadio B: Selección de factores asociados con la evolución de LOGNLYMP.

Fuente	Prob > F -partial F test-									
	MJ_L2.1	MJ_L2.2	MJ_L2.3	MJ_L2.4	MJ_L2.5	MJ_L2.6	MJ_L2.7	MJ_L2.8	MJ_L2.9	MJ_L2.13
SEXO	0'5470	0'5259	0'5537	0'5449	0'6304	0'3822	0'1588	0'1266	0'1379	'
EDAD	0'1730	0'1485	0'1467	0'1400	0'1514	0'1372	0'1315	0'1088	0'0997	'
NROAREAS	0'2055	0'2153	0'2281	0'1863	0'3603	0'3234	0'3117	0'3121	0'2191	'
I_NLYMP	0'2624	0'2472	0'2657	0'0983	0'1067	0'1108	0'1185	0'1026	0'0253	0'0366
ZONA	0'6567	0'6993	0'6684	0'6712	0'5982	0'6844	0'6773	0'6957	'	'
RAND	0'8222	0'8833	0'6934	0'7076	0'6874	0'7132	0'7491	'	'	'
T	0'0001	0'0001	0'0001	0'0001	0'0002	0'0013	0'0003	0'0003	0'0002	0'0003
T*SEXO	0'0682	0'0591	0'0434	0'0444	0'0229	0'1063	'	'	'	'
T*EDAD	0'6806	'	'	'	'	'	'	'	'	'
T*NROAREA	0'2451	0'2780	0'3061	0'1917	'	'	'	'	'	'
T*I_NLYMP	0'5175	0'4862	0'4541	'	'	'	'	'	'	'
T*ZONA	0'2668	0'2402	0'2196	0'1147	0'0594	'	'	'	'	'
T*RAND	0'6764	0'5077	'	'	'	'	'	'	'	'

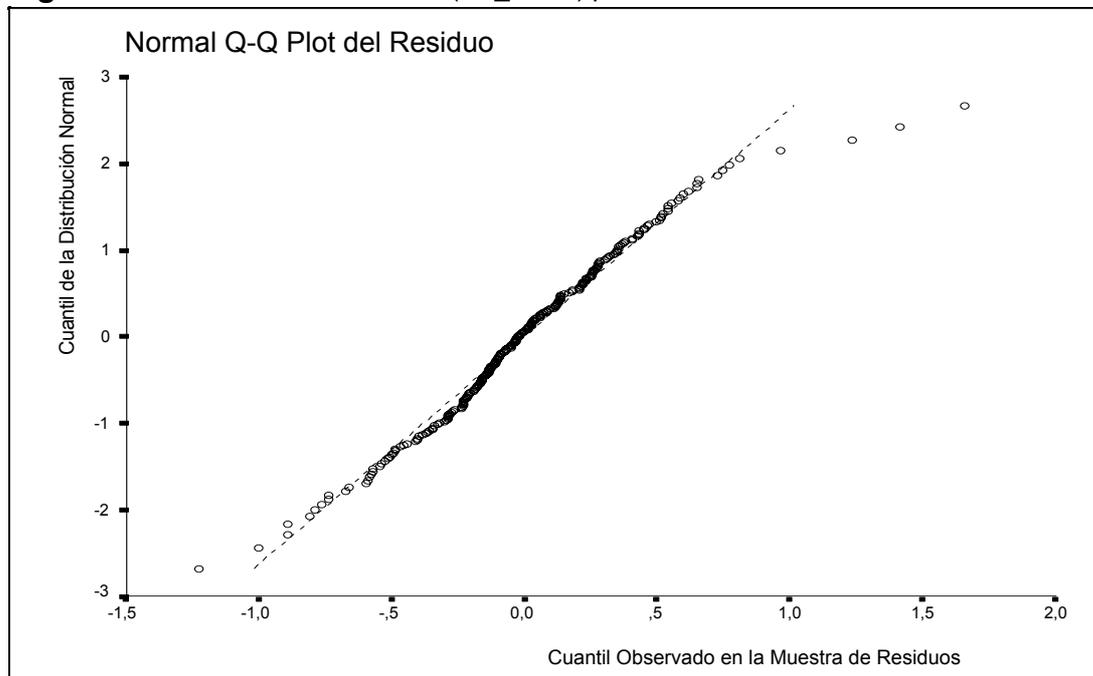
En la **Tabla 63** figuran las estimaciones de los parámetros del modelo seleccionado. La media de LOGNLYMP estimada para el comienzo del seguimiento sólo es significativamente diferente para los individuos con un nivel de linfocitos igual o superior a 80. Dicha media es similar a la observada en los pacientes que fueron tratados con clorambucil en el estadio A (**Tabla 54**). Ello es debido a que todos los pacientes en el estadio B reciben tratamiento -COP o Clorambucil-, que provocan un brusco descenso en el número de linfocitos que se detecta antes de la primera revisión; este descenso es similar con ambos tratamientos. Después LOGNLYMP aumenta, cualquiera que sea el tratamiento administrado.

Tabla 63. Estimación y Contraste de los efectos del modelo para LOGNLYMP (MJ_L2.13).

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		T para H_0 : Parámetro=0	Prob.> T
INTERCEPT	0'8959	0'2357	0'4295	1'3623	3'80	0'0002
I_NLYMP >=80	1'2453	0'4060	0'4418	2'0487	3'07	0'0026
[40-80[0'3892	0'4203	-0'4427	1'2211	0'93	0'3563
<40	0'0000	'	'	'	'	'
T	0'0310	0'0080	0'0152	0'0469	3'88	0'0002

El test de Shapiro y Wilk (1965) no rechaza la hipótesis de distribución normal del residuo del modelo MJ_L2.13 ($p= 0'3134$). La **Figura 57** presenta el diagrama de normalidad de dicho residuo. La correlación entre cuantiles observados y los correspondientes a la distribución normal es del 0'99.

Figura 57. Normalidad del Residuo (MJ_L2.13) para la Evolución de LOGNLYMP.



En los diagramas de dispersión del residuo frente a la predicción del modelo (**Figura 58**) y el tiempo de seguimiento (**Figura 59**) no se aprecian

patrones de heterocedasticidad o correlación con el tiempo que pudieran cuestionar las suposiciones del modelo jerárquico.

Figura 58. Dispersión del Residuo frente a la Predicción de LOGNLYMP (MJ_L2.13).

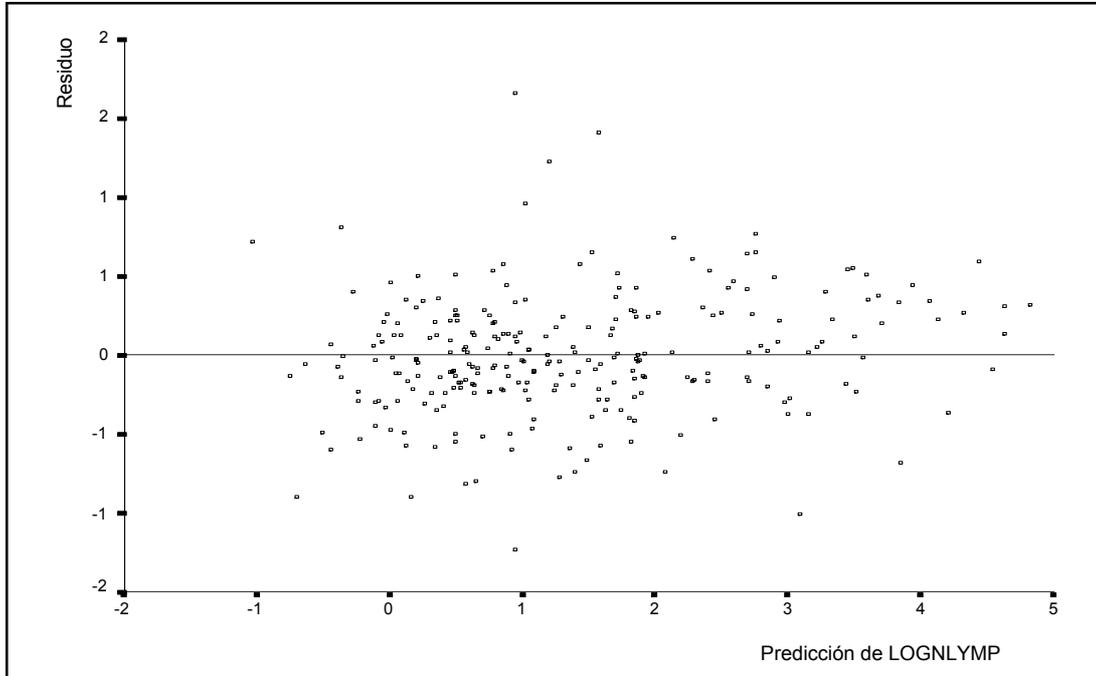
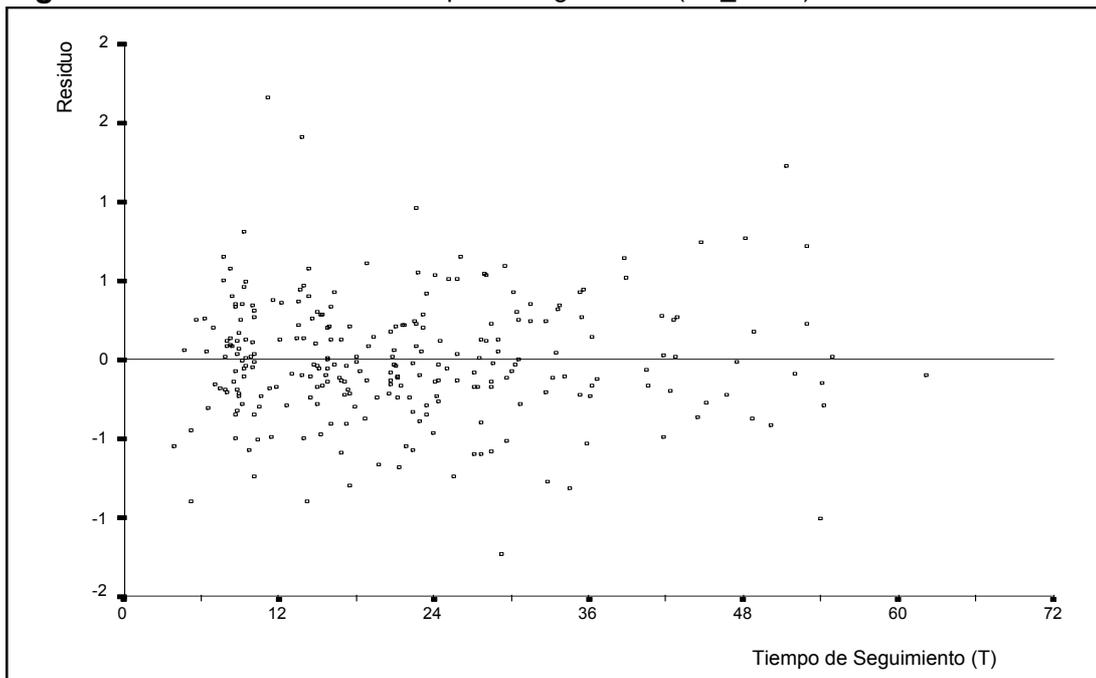


Figura 59. Residuos frente al Tiempo de Seguimiento (MJ_L2.13).



B. Evolución de la Concentración de Hemoglobina (HB).

Partiendo del modelo que consideraba diferentes parámetros de covarianza en cada grupo de tratamiento, seleccionamos mediante el TRV el submodelo resumido en la **Tabla 64**. La covarianza $-\sigma(a, b)$ entre los términos independientes y las pendientes de los modelos intraindividuales no es diferente de 0 ($p=0'7755$).

Tabla 64. Estadio B: Modelo para la Covarianza de HB.

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		Z para H_0 : Parámetro=0	Prob> Z
$\sigma^2(a)$	62'1726	17'7624	27'358	96'9865	3'50	0'0005
$\sigma^2(b)$	0'3862	0'1105	0'1695	0'6029	3'49	0'0005
σ^2	84'8562	8'6287	67'944	101'768	9'83	0'0000

Los contrastes que figuran en la tabla permiten afirmar que existe variabilidad en los términos independientes y las pendientes de los modelos intraindividuales. La estimación de la desviación estándar de HB, considerada constante en el tiempo e igual para todos los pacientes clasificados en B es de aproximadamente 9 g / litro.

En la **Tabla 65** resumimos el proceso de selección de los factores relacionados con la evolución de HB en el estadio B, basada en los resultados de los test parciales realizados sobre los efectos fijos de diferentes modelos jerárquicos.

Tabla 65. Estadio B: Selección de factores asociados con la evolución de HB.

Fuente	Prob > F -partial F test-							
	MJ_H2.1	MJ_H2.2	MJ_H2.3	MJ_H2.4	MJ_H2.5	MJ_H2.6	MJ_H2.8	MJ_H2.10
SEXO	0'0005	0'0005	0'0005	0'0006	0'0017	0'0015	0'0015	0'0006
EDAD	0'3701	0'3698	0'3746	0'4590	0'4445	0'4456	0'4431	'
NROAREAS	0'5636	0'5657	0'5928	0'5941	0'6297	0'6307	'	'
I_NLYMP	0'8589	0'8594	0'8599	0'8782	0'9299	0'8772	'	'
ZONA	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000
RAND	0'4684	0'4513	0'4525	0'4551	0'4372	0'4498	0'4698	'
T	0'0022	0'0022	0'0020	0'0017	0'0014	0'0011	0'0011	0'0052
T*SEXO	0'1005	0'0954	0'0935	0'1244	0'0952	'	'	'
T*EDAD	0'5798	0'5704	0'5706	'	'	'	'	'
T*NROAREAS	0'8335	0'8355	'	'	'	'	'	'
T*I_NLYMP	0'4680	0'4516	0'4266	0'4266	'	'	'	'
T*ZONA	0'0087	0'0068	0'0061	0'0069	0'02081	0'15180	'	'
T*RAND	0'9978	'	'	'	'	'	'	'

El modelo seleccionado (MJ_H2.10) no permite identificar patrones diferentes de evolución a partir de los factores explicativos considerados. Es importante resaltar que en este estadio -B- no existen diferencias significativas en la evolución de HB según el tratamiento administrado a los pacientes (clorambucil o COP).

En la **Tabla 66** figuran las estimaciones y contrastes de los efectos fijos -parámetros- incluidos en el modelo MJ_H2.10 para la evolución de la concentración de hemoglobina.

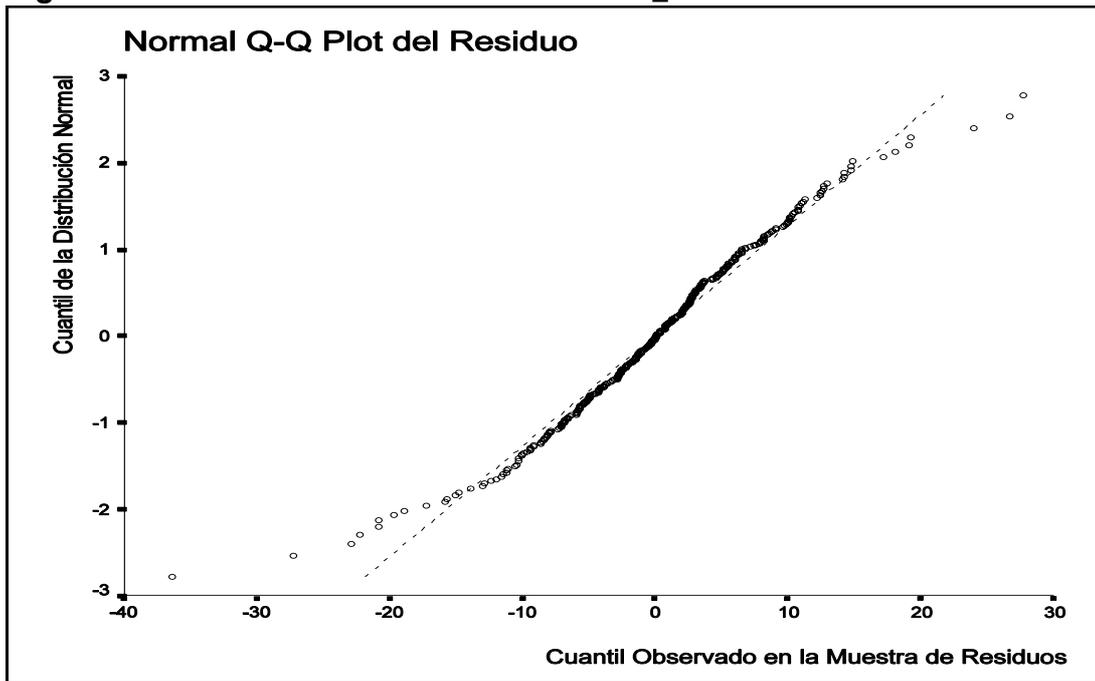
Tabla 66. Estimación y Contraste de los efectos del modelo para HB (MJ_H2.10).

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		T para H ₀ : Parámetro=0	Prob.> T	
INTERCEPT	136'8374	2'6526	131'6047	142'0702	51'59	0'0000	
SEXO	Hombre	8'6322	2'4688	3'7621	13'5022	3'50	0'0006
	Mujer	0'0000	'	'	'	'	'
ZONA	5	-26'5790	3'0438	-32'5834	-20'5746	-8'73	0'0000
	6	-24'7247	4'4184	-33'4407	-16'0086	-5'60	0'0000
	8	0'9539	2'8290	-4'6268	6'5345	0'34	0'7364
	9	0'0000	'	'	'	'	'
T		-0'2745	0'0951	-0'4622	-0'0868	-2'89	0'0044

La media de la pendiente de evolución de HB es negativa sea cual sea la localización de los pacientes (ZONA), no diferenciándose demasiado de la presentada por los individuos clasificados en el estadio A y tratados con clorambucil, si exceptuamos la evolución positiva de dichos pacientes en las zonas cinco y seis.

En la **Figura 60** presentamos el diagrama de normalidad del residuo -diferencia entre el valor observado y la predicción- en el modelo MJ_H2.10. La correlación entre los cuartiles observados en la muestra de residuos y los de la distribución normal es del 0'99. El test de Shapiro y Wilks (1965) no permite rechazar la hipótesis de distribución normal del residuo ($p = 0'2763$).

Figura 60. Normalidad del Residuo en el Modelo MJ_H2.10.



Los diagramas de dispersión del residuo frente a la predicción de HB realizada por el modelo MJ_H2.10 (**Figura 61**) y frente al tiempo de seguimiento (**Figura 62**) no permiten apreciar ningún patrón claro de heterocedasticidad o correlación con el tiempo.

Figura 61. Residuo frente a la Predicción de HB (MJ_H2.10).

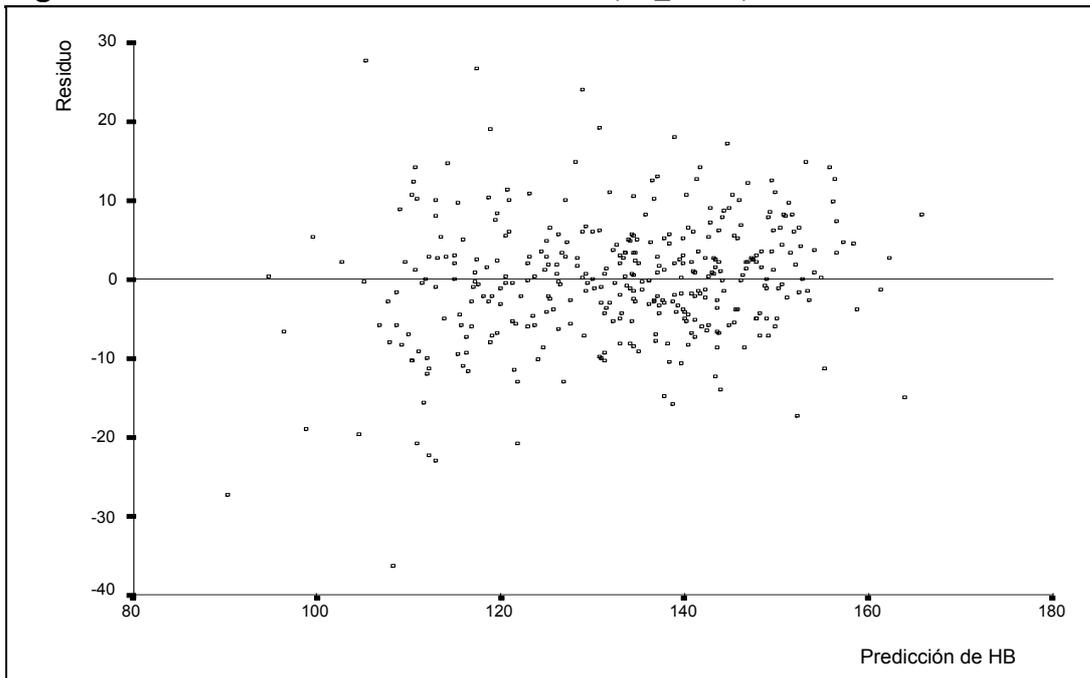
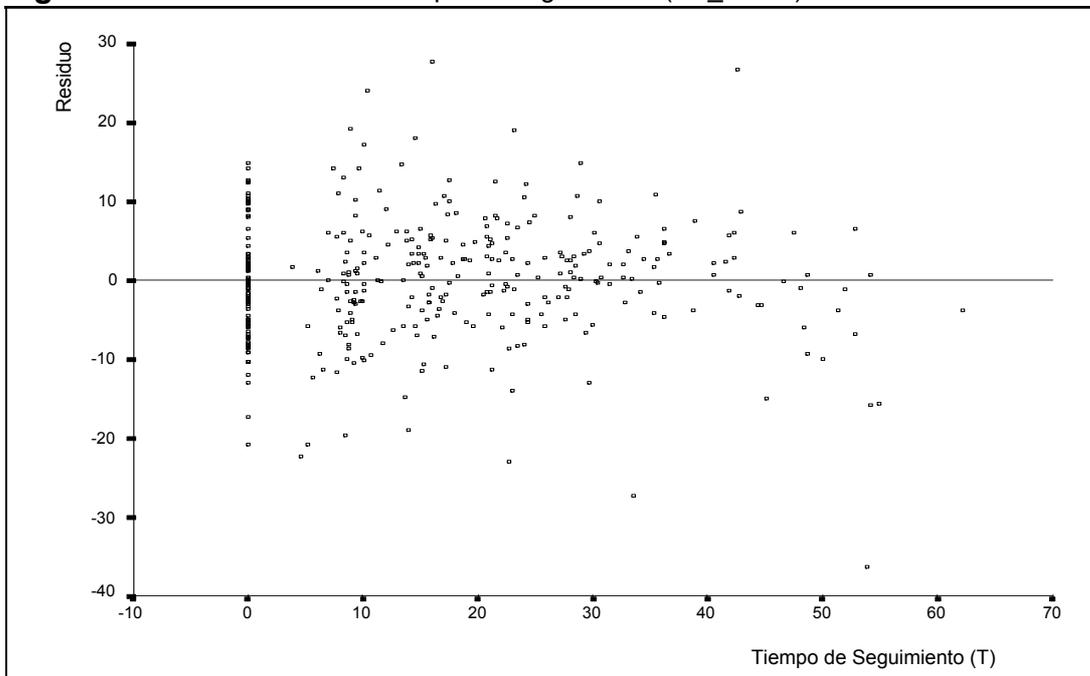


Figura 62. Residuo frente al Tiempo de Seguimiento (MJ_H2.10).



C. Evolución del número de Plaquetas (PLAQ).

Construimos un primer modelo para la covarianza de PLAQ considerando diferentes matrices Λ y R_i según el grupo de tratamiento. Los contrastes realizados mediante el TRV permiten simplificar el modelo, seleccionando el que se resume en la **Tabla 67**.

Tabla 67. Modelo para la Covarianza de PLAQ en el Estadio B.

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		Z para H_0 : Parámetro=0	Prob> Z
σ^2 (a)	1261'5033	334'0385	606'799	1916'20	3'78	0'0002
σ^2 (b)	2'1035	1'2743	-0'3941	4'6013	1'65	0'0988
σ^2	1691'7252	172'6492	1353'33	2030'11	9'80	0'0000

Los contrastes de los parámetros (**Tabla 67**) permiten afirmar la existencia de variabilidad en los términos independientes de los modelos intraindividuales. La variabilidad en las pendientes de dichos modelos puede ser importante aunque en esta cohorte no resulta ser significativa ($p=0'09$). La estimación de la desviación estándar de PLAQ considerada constante en el tiempo e igual para todos los pacientes de la cohorte es de $41'13 \times 10^9$ / litro.

En la **Tabla 68** resumimos el proceso de selección de los factores asociados con la evolución del número de plaquetas en el tiempo. El modelo seleccionado (MJ_P2.9) incluye, además del tiempo T y ZONA, la interacción de T con el indicador del número de linfocitos (I_NLYMP), la localización según ZONA y el tratamiento administrado (RAND). Los tres factores identifican grupos de pacientes con patrones diferentes de evolución de PLAQ.

Tabla 68. Estadio B: Selección de factores asociados con la evolución de PLAQ.

Fuente	Prob>F -tests F parciales-								
	MJ_P2.1	MJ_P2.2	MJ_P2.3	MJ_P2.4	MJ_P2.5	MJ_P2.6	MJ_P2.7	MJ_P2.8	MJ_P2.9
SEXO	0'9703	0'9852	0'7866	0'7989	0'7914	0'6754	0'6171	'	'
EDAD	0'5970	0'5983	0'6519	0'8860	0'8799	'	'	'	'
NROAREAS	0'8087	0'9220	0'9164	0'9163	'	'	'	'	'
I_NLYMP	0'6512	0'6708	0'6888	0'7485	0'7507	0'7686	'	'	'
ZONA	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000
RAND	0'6749	0'6703	0'6398	0'6120	0'6148	0'5277	0'5313	0'5715	'
T	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000	0'0000
T*SEXO	0'4605	0'4879	'	'	'	'	'	'	'
T*EDAD	0'3303	0'3222	0'3952	'	'	'	'	'	'
T*NROAREAS	0'6859	'	'	'	'	'	'	'	'
T*I_NLYMP	0'0043	0'0039	0'0041	0'0075	0'0074	0'0070	0'0072	0'0074	0'0074
T*ZONA	0'0203	0'0120	0'0134	0'0227	0'0227	0'0222	0'0211	0'0209	0'0214
T*RAND	0'0129	0'0124	0'0146	0'0136	0'0134	0'0129	0'0123	0'0123	0'0037

Tabla 69. Estimación y Contraste de los efectos del modelo para PLAQ (MJ_P2.9).

Parámetro		Estimación	Error Std.	Intervalo de Confianza (95%)		T para H ₀ : Parámetro=0	Prob> T
INTERCEPT		269'8409	9'8962	250'3184	289'3633	27'27	0'0000
ZONA	5	-105'6440	14'1046	-133'4680	-77'8194	-7'49	0'0000
	6	-4'8248	20'2901	-44'8517	35'2022	-0'24	0'8123
	8	-105'7930	13'1312	-131'6970	-79'8883	-8'06	0'0000
	9	0'0000	'	'	'	'	'
T		-1'6804	0'5703	-2'8054	-0'5554	-2'95	0'0036
T*I_NLYMP	>=80	-1'8969	0'8758	-3'6246	-0'1692	-2'17	0'0316
	[40-80[-1'9324	0'7205	-3'3537	-0'5111	-2'68	0'0080
	<40	0'0000	'	'	'	'	'
T*ZONA	5	1'5274	0'9045	-0'2570	3'3119	1'69	0'0930
	6	-2'2041	1'3144	-4'7971	0'3889	-1'68	0'0952
	8	1'0851	0'6889	-0'2740	2'4442	1'58	0'1169
	9	0'0000	'	'	'	'	'
T*RAND	COP	1'6662	0'5673	0'5471	2'7853	2'94	0'0037
	Clor.	0'0000	'	'	'	'	'

Las estimaciones de los efectos fijos del modelo seleccionado (MJ_P2.9) se recogen en la **Tabla 69**. La localización de los pacientes en la zona seis tiene un efecto muy negativo sobre la media de la pendiente de evolución del recuento de plaquetas. Este efecto es significativamente diferente al de la localización en zona cinco ($p=0'0108$) u ocho ($p=0'0087$). También existe un efecto muy importante del nivel inicial de linfocitos (I_NLYMP) sobre la pendiente de evolución media de PLAQ, que cae mucho más rápidamente en los pacientes con niveles superiores o iguales a 40×10^9 / litro. El efecto del tratamiento sobre la pendiente de evolución de PLAQ es significativo, resultando una evolución más favorable en los tratados con COP, que parece ser menos agresivo con el nivel de plaquetas que el clorambucil, en los pacientes del estadio B. En particular, para los pacientes en zonas cinco y ocho, si $NLYMP < 40$, resulta una pendiente positiva.

Los diagramas de dispersión del residuo frente a la predicción de PLAQ (**Figura 63**) y el tiempo de seguimiento (**Figura 64**) no permiten apreciar ningún patrón claro de heterocedasticidad o correlación con el tiempo que pudiera invalidar las suposiciones del modelo jerárquico MJ_P2.9.

El test de ajuste a la distribución normal resulta significativo ($\alpha=0'10$). En la **Figura 65** representamos el diagrama de normalidad del residuo del modelo MJ_P2.9; la correlación entre los cuartiles observados en la muestra de residuos y los correspondientes a dicha distribución es de 0'98.

Figura 63. Estadio B: Residuo frente a la Predicción de PLAQ (MJ_P2.9).

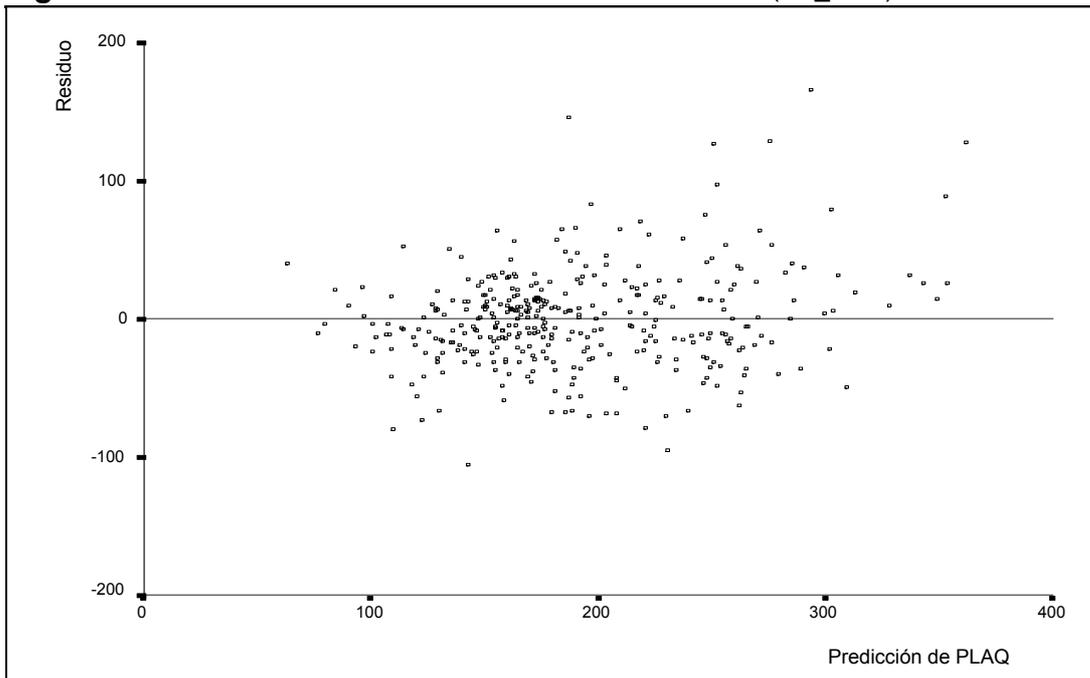


Figura 64. Residuo frente al Tiempo de Seguimiento (MJ_P2.9).

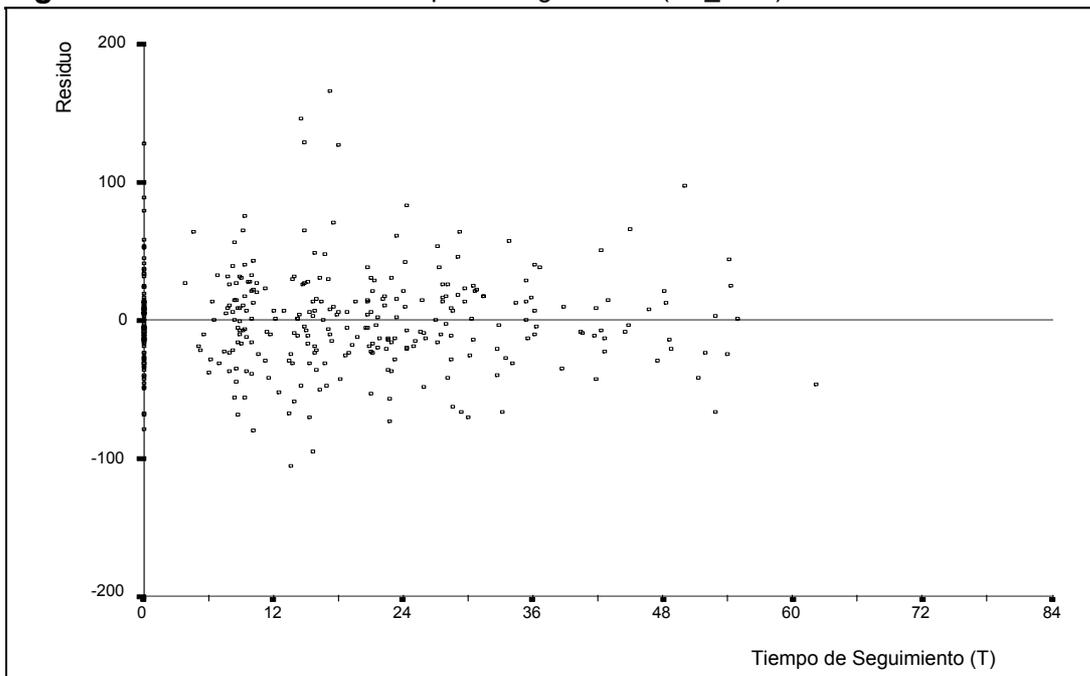


Figura 65. Normalidad del Residuo en el Modelo (MJ_P2.9).

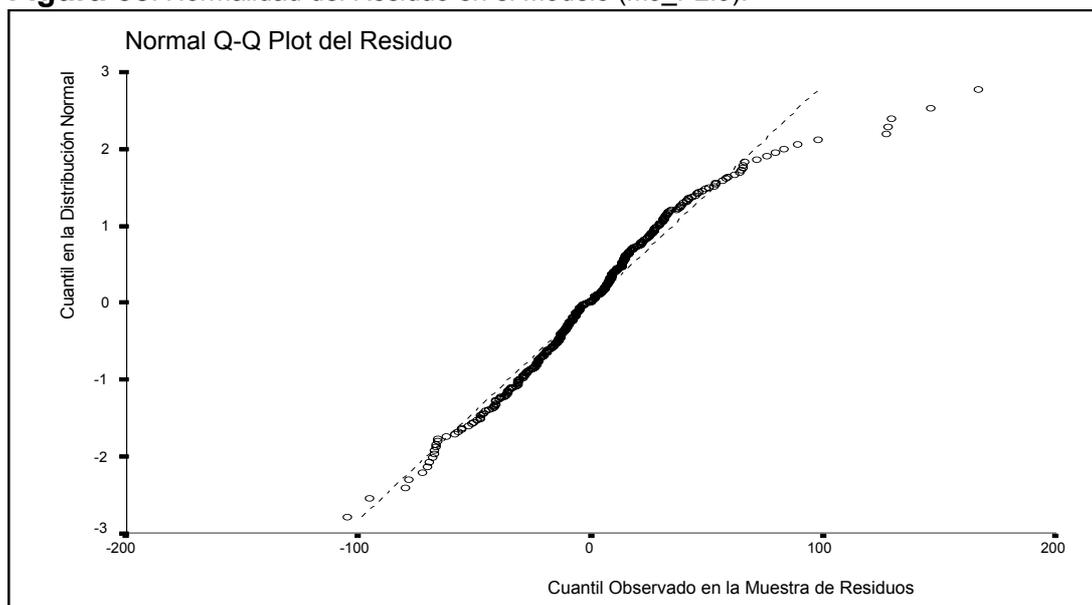


Tabla 70. Estadio B: Efectos del Modelo reducido para PLAQ.

Parámetro	Estimación	Error Std. de la Estimación	Intervalo de Confianza (95%)		T para H ₀ : Parámetro=0	Prob> T	
INTERCEPT	268'5884	8'4644	251'8949	285'2820	31'73	0'0000	
ZONA	5 ú 8	-104'5130	10'5341	-125'2880	-83'7373	-9'92	0'0000
	6 ó 9	0'0000	'	'	'	'	
T		-1'6474	0'5446	-2'7217	-0'5732	-3'02	0'0028
T*ZONA	6	-2'4054	1'1690	-4'7112	-0'0998	-2'06	0'0410
	5 ú 8	1'2562	0'6163	0'0407	2'4718	2'04	0'0429
	9	0'0000	'	'	'	'	
T*I_NLYMP	>=40	-1'6788	0'5561	-2'7757	-0'5820	-3'02	0'0029
	<40	0'0000	'	'	'	'	
T*RAND	COP	1'5011	0'5269	0'4619	2'5404	2'85	0'0049
	Clor.	0'0000	'	'	'	'	

La representación de la evolución de PLAQ sugerida por el modelo MJ_P2.9 es complicada debido al excesivo número de rectas diferentes que es necesario representar. Por esta razón, con el fin de mejorar la legibilidad de los gráficos, construimos un nuevo modelo que agrupa los niveles del indicador del número de linfocitos I_NLYMP en dos clases: <40 y >=40, y del factor ZONA en tres: (5 y 8; 6 ; 9). En la **Tabla 70** se encuentran las estimaciones del

modelo reducido en las que se basan las representaciones de la evolución media de PLAQ.

En la **Figura 66** presentamos la evolución media de PLAQ correspondiente al modelo reducido, según el nivel de linfocitos en sangre (I_NLYMP) y la localización de los pacientes por ZONA para los **tratados con clorambucil**. Los pacientes con $I_NLYMP \geq 40$, si están en zona 6, caerían por debajo de 100×10^9 plaquetas/litro prácticamente a la vez -aproximadamente 30 meses después de iniciar el tratamiento- que si están en zona cinco, a pesar de comenzar con niveles de PLAQ más altos, ya que su pendiente es más acusada. Si comparamos la evolución de las plaquetas y de la hemoglobina en el estadio B, se llega a la conclusión de que esos grupos de pacientes son los primeros candidatos para cambiar hacia el estadio pronóstico C. La evolución de PLAQ entre los pacientes localizados en ZONA 9 con un nivel de linfocitos mayor o igual a 40×10^9 / litro es similar a la evolución de los pacientes localizados en ZONA 6 con niveles de linfocitos inferiores a 40.

La **Figura 67** corresponde a la evolución media de PLAQ en los pacientes tratados con COP. El tratamiento con COP provoca que la pendiente de PLAQ en los individuos localizados en zonas 5 u 8 con nivel bajo de linfocitos (< 40) sea positiva; el gradiente de todas las demás pendientes disminuye, lo que provoca que PLAQ no caiga por debajo del nivel 100×10^9 plaquetas / litro, sin incurrir en extrapolaciones. Extrapolando a muy corto plazo, resultaría que los individuos en zona 6 con nivel alto de linfocitos (≥ 40) entrarían en estadio C hacia los 42 meses después de iniciar el tratamiento; los otros grupos no caerían hasta mucho más tarde si se mantuviera la tendencia.

Figura 66. Estadio B: Evolución Media de PLAQ -tratados con Clorambucil-

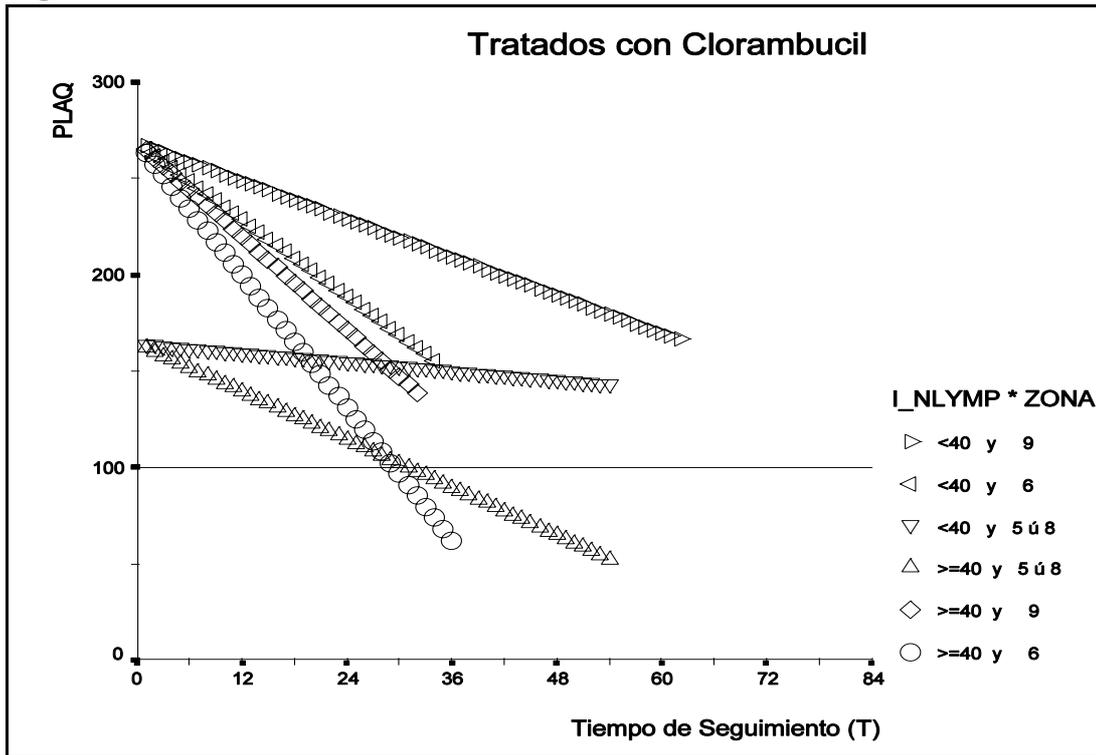
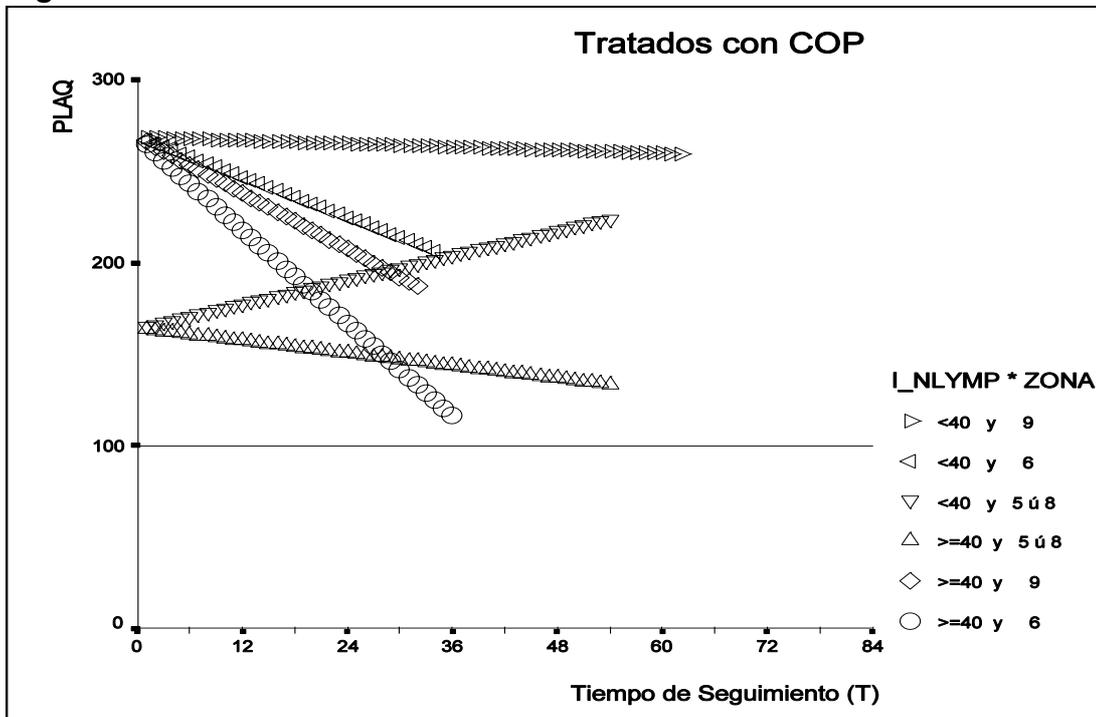


Figura 67. Estadio B: Evolución Media de PLAQ -tratados con COP-



Capítulo 8.

Análisis de la Muestra de Contraste.

I. ANÁLISIS DEL BALANCE INICIAL.

A. Las Hipótesis.

El análisis univariante de los datos del balance inicial en la muestra de exploración (Capítulo 6) permite la formulación de algunas hipótesis sobre la asociación entre las variables estudiadas:

- A. Los hombres tienen mayor número de áreas afectadas. También existen diferencias significativas por sexo en la concentración de hemoglobina y el recuento de linfocitos o de plaquetas. El número de linfocitos y la concentración de hemoglobina son mayores en los hombres, mientras que el recuento de plaquetas es mayor en las mujeres.
- B. El número de áreas afectadas tiene relación con las tres variables respuesta -LOGNLYMP, HB y PLAQ- consideradas independientemente, pero los valores de NROAREAS que identifican diferencias en la distribución de cada respuesta son distintos. Los pacientes con menos de tres áreas afectadas tienen valores medios de LOGNLYMP inferiores a los que presentan los individuos con tres o más áreas afectadas. Cuando NROAREAS es menor de dos, la concentración de hemoglobina es más alta, mientras que los niveles de plaquetas empiezan a ser más bajos, si NROAREAS es mayor de tres.
- C. **La distribución del número de linfocitos en el estadio pronóstico C** permite identificar tres grupos de pacientes. El 40% tienen niveles de linfocitos menores de 40, mientras que un

50% presenta valores superiores o iguales a 80. Además, en dicho estadio, el 29% de los pacientes tiene menos de tres áreas afectadas. **La media de concentración de hemoglobina y número de plaquetas son más bajas en el estadio B**, cuando lo comparamos con el estadio A. **También existe diferencia en la media de LOGNLYMP en los estadio A y B.**

Los diagramas de dispersión y el análisis multivariante mediante modelos MANOVA (Capítulo 6) permite formular algunas hipótesis sobre la asociación entre variables:

- D. Los diagramas de dispersión de las variables respuesta identificaban asociaciones entre dichas variables. Valores altos de LOGNLYMP se asocian con valores bajos de concentración de hemoglobina (HB) o recuento de plaquetas (PLAQ). Además, existe asociación entre HB y PLAQ.
- E. Existe una categorización de las variables edad (<55, [55-70[, >=70) y NROAREAS (<3, [3], >=4) de significado global sobre las tres variables respuesta.
- F. Después de ajustar por los efectos del sexo, la edad y el número de áreas afectadas -categorizadas las dos últimas según los niveles de significado global antes mencionados-, existe una correlación significativamente diferente de 0 entre el número de linfocitos y la concentración de hemoglobina. También existe correlación parcial significativa entre HB y PLAQ.

- G. **La relación entre la concentración de hemoglobina y el número de plaquetas no está explicada por el sexo, la edad, el número de áreas afectadas (NROAREAS) o el nivel del número de linfocitos (I_NLYMP)**, aunque I_NLYMP remueve la correlación entre LOGNLYMP y HB.
- H. La consideración del factor ZONA -localización de los pacientes en el plano de representación de la asociación HB-PLAQ- o la exclusión de los pacientes clasificados en el estadio pronóstico C hacen que la correlación entre HB y PLAQ deje de ser significativamente diferente de cero. Sin embargo, en los pacientes de los estadio A o B, el test de la χ^2 permite rechazar la independencia entre los niveles iniciales -"normales" y "anormales"- de concentración de hemoglobina (I_HB) y los niveles -[100-200], ≥ 200 - del recuento plaquetario (I_PLAQ).
- I. **Existe asociación entre los niveles iniciales de linfocitos (I_NLYMP), concentración de hemoglobina (I_HB) y recuento de plaquetas (I_PLAQ) con el número de áreas afectadas (NROAREAS)**. Por esta razón, la selección de los pacientes con más de 3 áreas afectadas (NROAREAS >3) tiende a incluir, en el grupo pronóstico B de la clasificación de Binet et al. (1981), a los individuos con nivel de linfocitos superior a 40×10^9 /litro, recuento de plaquetas menor de 200×10^9 y concentraciones "anormales" de hemoglobina (I_HB). Un 12% de los pacientes incluidos en el estadio A tienen valores "anormales" de concentración de

hemoglobina, y el 40% presentan valores de plaquetas por debajo de 200.

El contraste de estas hipótesis en la muestra C requiere la repetición de algunos análisis efectuados anteriormente sobre el balance inicial de los pacientes incluidos en la muestra de exploración. A continuación ofrecemos un resumen de los resultados de dichos análisis, así como algunos datos descriptivos de los pacientes incluidos en la muestra de contraste.

B. Estudio Univariante.

1. El Efecto del Sexo.

La muestra de contraste consta de 611 pacientes. El 64'34% son hombres. El test de la χ^2 rechaza la independencia entre el sexo y el número de áreas afectadas -NROAREAS- ($p=0'001$), confirmándose el resultado de la muestra de exploración. El porcentaje de hombres con menos de tres áreas afectadas (57'22%) es mucho menor al de mujeres (71'16%), sin embargo, el porcentaje de hombres con afectación de 4 ó 5 áreas (24'23%) dobla al de mujeres con el mismo grado de afectación (12'23%).

No encontramos diferencia significativa en la media de LOGNLYMP según el sexo ($p=0'4971$), con varianzas iguales ($p=0'3517$). Este resultado no coincide con el obtenido en la muestra de exploración que puede ser debido al azar. En consecuencia no se rechaza la hipótesis de igualdad de medias en los dos sexos. La media de la concentración de hemoglobina es diferente por sexo ($p=0'0001$), con varianzas distintas ($p=0'0000$). También existe diferencia

significativa en la media de PLAQ de hombres y mujeres ($p=0'0247$), con varianzas iguales ($p=0'7540$). La media de PLAQ en los hombres (208'90) es menor que la observada en las mujeres (224'35) de la muestra de contraste. El sentido de las diferencias observadas en la muestra de exploración según el sexo se mantiene en la muestra de contraste para la concentración de hemoglobina y el recuento de plaquetas.

2. El Efecto del Número de áreas afectadas (NROAREAS).

Estudiamos el efecto del factor NROAREAS sobre cada variable respuesta -LOGNLYMP, HB y PLAQ- mediante contrastes de medias para dos poblaciones con varianzas iguales o no. Los niveles de afectación de NROAREAS que identifican diferentes distribuciones de LOGNLYMP (NROAREAS<3), concentración de hemoglobina (NROAREAS<2) y PLAQ (NROAREAS<4) **se mantienen y confirman en la muestra de contraste**. La media de LOGNLYMP de los individuos con 0, 1 o 2 áreas (2'87) es significativamente ($p<0'0001$) menor que la de los pacientes con tres o más áreas (3'59), con varianzas diferentes ($p=0'0001$). La media de HB en los pacientes con 0 ó 1 área (142'83) es significativamente ($p<0'0085$) mayor que la correspondiente a los individuos que presentaban afectación de exclusivamente dos áreas (137'57), con varianzas diferentes ($p=0'0417$). Por último, la media de PLAQ de los pacientes con 4 ó 5 áreas (175'26) es significativamente más baja ($p=0'0006$) que la de los individuos con exclusivamente 3 áreas afectadas, con varianzas iguales ($p=0'1363$).

3. El Efecto del estadio pronóstico (STADEN).

El 60'43% de los pacientes en la muestra de contraste fueron clasificados en el estadio pronóstico A y un 32'02% en B. En la **Tabla 71** se presenta, para cada estadio pronóstico la distribución de los individuos según el factor I_NLYMP. Esta distribución es muy similar a la observada en la muestra de exploración (**Tabla 22**), **confirmándose la existencia de tres grupos (<40, [40-80[, >=80), con dos modas** en los grupos extremos. También se confirma la existencia en el estadio C de un 17'39% de pacientes con menos de tres áreas afectadas. No existe diferencia significativa entre las proporciones de este tipo de pacientes, en las poblaciones representadas por las muestras de exploración y contraste ($p=0'1233$).

Tabla 71. Muestra C: Distribución de I_NLYMP condicionada al Estadio.

%	I_NLYMP		
	<40	[40-80[>=80
Estadio			
A	88'32	9'78	1'90
B	58'46	22'56	18'97
C	52'17	8'70	39'13

La media de la concentración de hemoglobina (HB) en los pacientes del estadio A (142'29) es mayor ($p<0'0001$) que la correspondiente al estadio B (134'34), con varianzas diferentes ($p=0'0015$). La situación con el recuento de plaquetas (PLAQ) es muy similar; la media en el estadio A (229'54) también es mayor ($p=0'0191$) que la del estadio B (212'54), con varianzas iguales ($p=0'7844$). Sin embargo, la media de LOGNLYMP en el estadio A (2'87) es menor ($p=0'0001$) que la del estadio B (3'48), con distintas varianzas ($p<0'0001$). **Todos estos resultados confirman las hipótesis extraídas del análisis de la muestra de exploración.**

C. Análisis Multivariante del Balance Inicial.

Los diagramas de dispersión de las variables respuesta tomadas dos a dos, muestran patrones parecidos a los representados en el análisis de la muestra de exploración. Se confirma la relación existente entre las variables respuesta. Los tres coeficientes de correlación -Total- de Pearson son significativamente diferentes de cero ($p < 10^{-5}$), con idéntico signo, y magnitud muy similar a los observados en la muestra de exploración (**Tabla 43**).

1. Modelo MANOVA1: Categorización de Significado Global.

El análisis MANOVA1 efectuado sobre la muestra de contraste confirma la selección de niveles realizada en la muestra de exploración, para categorizar el factor NROAREAS con significado global (<3 , $[3]$, ≥ 4). Sin embargo, los test MANOVA realizados en la muestra de contraste indican que la categorización de la edad debería incluir sólo dos niveles: los menores, y los mayores o iguales a 70 años.

La correlación parcial entre las variables respuesta es similar a la observada en la muestra de exploración con el modelo MANOVA1, pero en la muestra de contraste la correlación parcial entre LOGNLYMP y PLAQ (-0.095), aunque pequeña, es significativamente diferente de cero ($p = 0.0200$), por lo que no podemos admitir la inexistencia de correlación parcial.

2. MANOVA2. Relación HB-PLAQ independiente de I_NLYMP.

La inclusión del indicador del número de linfocitos (I_NLYMP) como factor explicativo en el modelo MANOVA2 remueve la correlación parcial de LOGNLYMP tanto con HB como con PLAQ ($p > 0.1189$), permaneciendo prácticamente inalterada y significativa -diferente de cero- la correlación (0.19) entre HB y PLAQ ($p = 5 \times 10^{-6}$). Este resultado **confirma una relación entre HB y PLAQ no explicada por el nivel del número de linfocitos, el número de áreas afectadas, la edad o el sexo** de los pacientes. Los tests MANOVA confirman la necesidad de considerar el sexo, el número de áreas y el indicador de linfocitos (I_NLYMP) en la explicación de la distribución conjunta de las variables respuesta.

3. MANOVA3: el factor ZONA en la explicación de las Respuestas

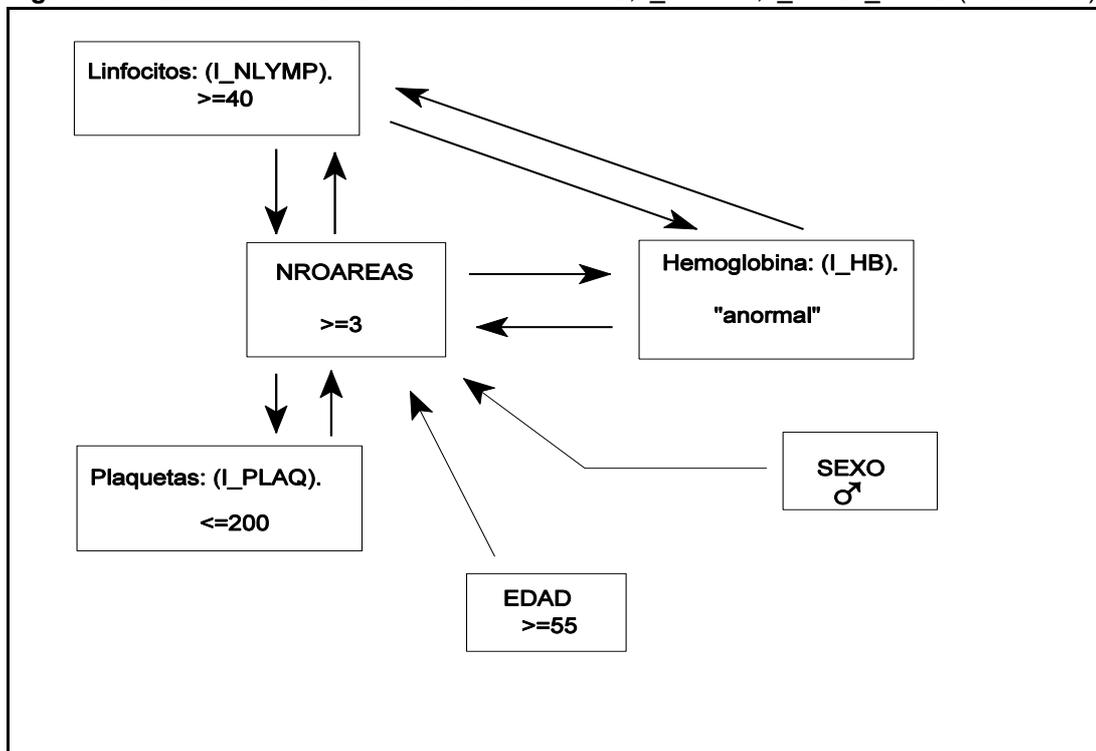
Los resultados del modelo MANOVA3 son muy similares a los expuestos en la muestra de exploración (Capítulo 6), confirmándose la necesidad de considerar los factores: sexo, número de áreas afectadas (NROAREAS), indicador de linfocitos (I_NLYMP) y ZONA a la hora de explicar la distribución conjunta de las tres variables respuesta. Aunque la importancia de estos factores en la descripción de la distribución marginal de cada variable sea muy diferente, los tests MANOVA de dichos factores son todos significativos ($p < 0.0032$). Sin embargo, como ocurría en la muestra de exploración, el factor edad resulta no significativo -test MANOVA $p = 0.2108$ -.

4. Estudio de la Asociación limitado a los Estadios A y B.

Cuando prescindimos de los pacientes en el estadio C, la correlación entre HB y PLAQ tiene un valor de 0'08, situado en el límite de significación del test que contrasta si es igual a cero ($p=0'0587$).

La asociación entre los factores I_NLYMP, I_HB e I_PLAQ con el número de áreas afectadas (NROAREAS) se mantiene con el mismo sentido que se encontró en la muestra de exploración (Figura 44), aunque cambia la relación del sexo y la edad con el resto de los factores, como se puede apreciar en la Figura 68. El sexo no es necesario en la explicación de la probabilidad de presentar diferentes niveles iniciales de concentración de hemoglobina, debido a que se tiene en cuenta en la definición del factor I_HB.

Figura 68. Asociación entre los factores NROAREAS, I_NLYMP, I_HB e I_PLAQ (muestra C).



Dicho factor (I_HB) tiene sólo dos niveles: valores clínicos “anormales” -por debajo del límite inferior del intervalo de referencia considerado “normal” según su sexo- y valores clínicos “normales”.

En el análisis de la muestra de contraste el test de la χ^2 no permite rechazar la independencia ($p=0'1740$) entre los niveles iniciales de concentración de hemoglobina -“anormales” y “normales”- y recuento de plaquetas - ≤ 200 y >200 -. Este resultado contradice el obtenido en la muestra de exploración. Sin embargo, un valor tan extremo de correlación entre HB y PLAQ en la muestra de contraste plantea la necesidad de estudiar más ampliamente la asociación entre ambas variables en los pacientes que no son clasificados en estadio C. De hecho, cuando consideramos conjuntamente las muestras de exploración y contraste tras excluir a los pacientes del estadio C, la correlación (0'08) entre HB y PLAQ es significativamente diferente de cero ($p=0'0201$), existiendo asociación entre los factores I_HB e I_PLAQ -test de la χ^2 $p=0'004$ -.

En la **Tabla 72** se presenta, para cada estadio pronóstico, la distribución de los pacientes por ZONA, en la muestra de contraste. La distribución es bastante similar a la obtenida en la muestra de exploración (**Tabla 51**), aunque los porcentajes de pacientes localizados en zona cinco son ahora algo menores.

Tabla 72. Muestra C: Distribución de ZONA condicionada al Estadio pronóstico.

% Estadio	ZONA			
	5	6	8	9
A	4'40	7'14	36'81	51'65
B	18'97	12'31	34'36	34'36

II. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN EN EL ESTADIO A.

El análisis de la muestra de exploración (Capítulo 7) nos ha permitido seleccionar un modelo (jerárquico) para la evolución de cada respuesta, que ha puesto de manifiesto diferencias significativas en la pendiente de evolución de las respuestas LOGNLYMP, HB y PLAQ según el nivel inicial de linfocitos (I_NLYMP), la localización de los pacientes por ZONA y el tratamiento administrado (RAND). Estos modelos equivalen a hipótesis complejas sobre la evolución de las respuestas. Ahora, ajustaremos los modelos seleccionados a los pacientes del estadio A en la muestra de contraste (C), obteniendo nuevas estimaciones y resultados de los tests, que compararemos con los obtenidos en la muestra de exploración. Sólo admitiremos como patrones de evolución aquellos que acrediten su condición de tales, también en la muestra C. Dichos patrones los incluiremos en un modelo jerárquico resumido que, por razones de estrategia ya expuestas en el Capítulo 4, ajustaremos en la muestra de contraste.

La cohorte de individuos clasificados en estadio A en la muestra de contraste está compuesta por 370 pacientes sobre los que se han efectuado 1.870 observaciones o balances hematológicos. A dichos pacientes se les asignó aleatoriamente tratamiento con clorambucil -191- o abstención terapéutica -179-. La comparación de la media o la varianza de cada respuesta según el tratamiento asignado (RAND) en el balance inicial, no descubre diferencias significativas ($\alpha=0'05$).

A. Análisis de la Evolución de LOGNLYMP.

1. Las hipótesis.

Dos son las hipótesis fundamentales en relación con la evolución de LOGNLYMP, extraídas del análisis de la muestra de exploración (capítulo 7).

En primer lugar, existe una covarianza negativa entre los términos independientes y las pendientes de evolución de los modelos intraindividuales en los pacientes tratados con clorambucil. Esto implica que la pendiente de evolución tiende a ser mayor cuanto más bajo es el nivel de linfocitos alcanzado tras el descenso inicial después de comenzar el tratamiento.

En segundo lugar, la pendiente de evolución media de LOGNLYMP es diferente en las clases definidas conjuntamente por los niveles iniciales de linfocitos (I_NLYMP) y el tratamiento administrado a los pacientes (RAND).

2. Ajuste del Modelo Jerárquico Seleccionado (MJ_L1.9).

Las estimaciones de los parámetros de covarianza y efectos fijos del modelo de evolución para LOGNLYMP (MJ_L1.9) ajustados en las muestras E (**Tabla 52 y 54**) y C (**Tabla 73, Tabla 74**) son bastante estables, como se puede apreciar, si se efectúan los test correspondientes para contrastar la diferencia de medias en las poblaciones de la que proceden las muestras.

Las estimaciones de los componentes de la varianza en la muestra de contraste (**Tabla 73**) confirman la existencia de covarianza $\sigma(a, b)$ de signo negativo entre las pendientes y términos independientes de los modelos

intraindividuales en los pacientes tratados con clorambucil. En consecuencia la pendiente de LOGNLYMP en los modelos intraindividuales es mayor, cuanto más bajo es el nivel de linfocitos alcanzado tras el descenso inicial después de comenzar el tratamiento.

Tabla 73. Muestra C: Modelo para la Covarianza de LOGNLYMP en el Estadio A.

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		Z para H ₀ : Parámetro=0	Prob> Z	
Clorambucil σ^2 (a)	1'3081	0'1925	0'9308	1'6854	6'79	0'0000	
	σ (a, b)	-0'0153	0'0044	-0'0242	-0'0066	-3'42	0'0006
	σ^2 (b)	0'0007	0'0001	0'0005	0'0011	4'81	0'0000
Abstención σ^2 (a)	0'1330	0'0236	0'0868	0'1794	5'63	0'0000	
	σ (a, b)	0'0031	0'0009	0'0013	0'0051	3'27	0'0011
	σ^2 (b)	0'0004	0'0000	0'0002	0'0006	4'16	0'0000
Clorambucil σ^2	0'2356	0'0147	0'2069	0'2645	16'03	0'0000	
Abstención σ^2	0'1354	0'0090	0'1177	0'1532	14'94	0'0000	

Los resultados del modelo MJ_L1.9 en la muestra de contraste (**Tabla 74**) **no confirman la necesidad de incluir la interacción I_NLYMP*RAND** en la explicación de LOGNLYMP ($p=0'6904$), que era preciso considerar en la muestra de exploración (**Tabla 54**). Esto significa que no podemos rechazar la hipótesis de que el logaritmo del número de linfocitos en el origen de la escala temporal, si la caída inicial fuera inmediata, se diferencia en un valor constante según el tratamiento aplicado (RAND), para cada nivel de I_NLYMP.

El test parcial para el efecto de la interacción con el tiempo en el modelo MJ_L1.9 es significativo ($p<0'0329$), lo que confirma la existencia de patrones de evolución diferentes según el nivel inicial de linfocitos (I_NLYMP) y el tratamiento administrado (RAND): en particular la pendiente de evolución de los individuos tratados con clorambucil es significativamente diferente de la que

presentan los pacientes en abstención terapéutica, cuando el nivel de linfocitos (I_NLYMP) es menor de 40×10^9 linfocitos/litro, como ya se observó en la muestra de exploración. Este es el único patrón de evolución observado en la muestra de exploración que se repite en la muestra de contraste, resultando muy diferente la estimación de las pendientes de evolución de los individuos con 80×10^9 o más linfocitos por litro. Esto es debido a que son muy pocos los individuos clasificados en el estadio A con un nivel de linfocitos tan alto.

En la **Figura 69** representamos la evolución media de LOGNLYMP en la muestra de contraste, según las estimaciones realizadas para el modelo MJ_L1.9 (**Tabla 74**). La representación recoge una evolución de LOGNLYMP diferente según el tratamiento entre los individuos con nivel inicial de linfocitos por debajo de 40×10^9 l como ya vimos en la **Figura 45** correspondiente a la muestra de exploración. Esta diferencia, aunque mínima, es significativa. La representación se ha hecho de manera que no se incurra en extrapolaciones, señalando con el número (1) las pendientes que no son significativamente diferentes de la correspondiente a la clase de referencia.

El ajuste del modelo en la muestra de contraste se valoró mediante los diagramas de dispersión del residuo frente a la predicción del modelo (**Figura 70**) y el tiempo de seguimiento (**Figura 71**). En este último, parece señalarse una relación entre la varianza y el tiempo de seguimiento, que implicaría la necesidad de estudiar en el futuro otros modelos de covarianza. También analizamos la normalidad del residuo mediante el correspondiente diagrama (Q-Q plot), que permite apreciar una correlación de 0'96 entre los cuantiles observados en la muestra de residuos y los cuantiles correspondientes a la distribución normal.

Figura 70. Muestra C: Residuo frente a la predicción de LOGNLYMP (MJ_L1.9).

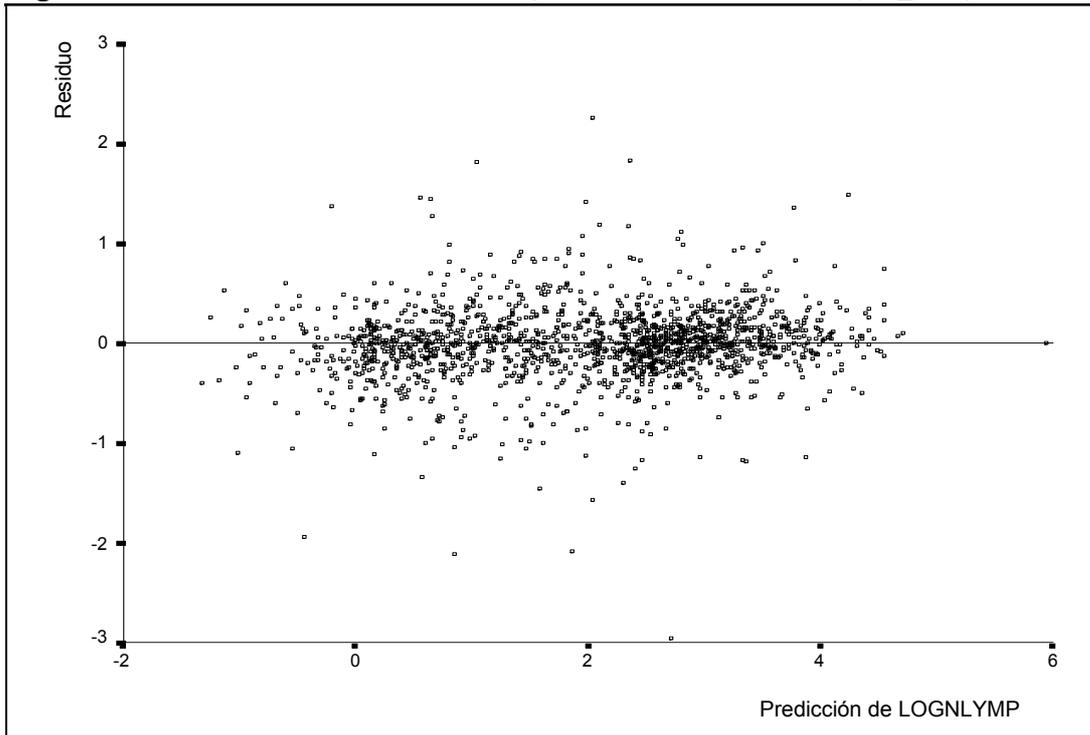
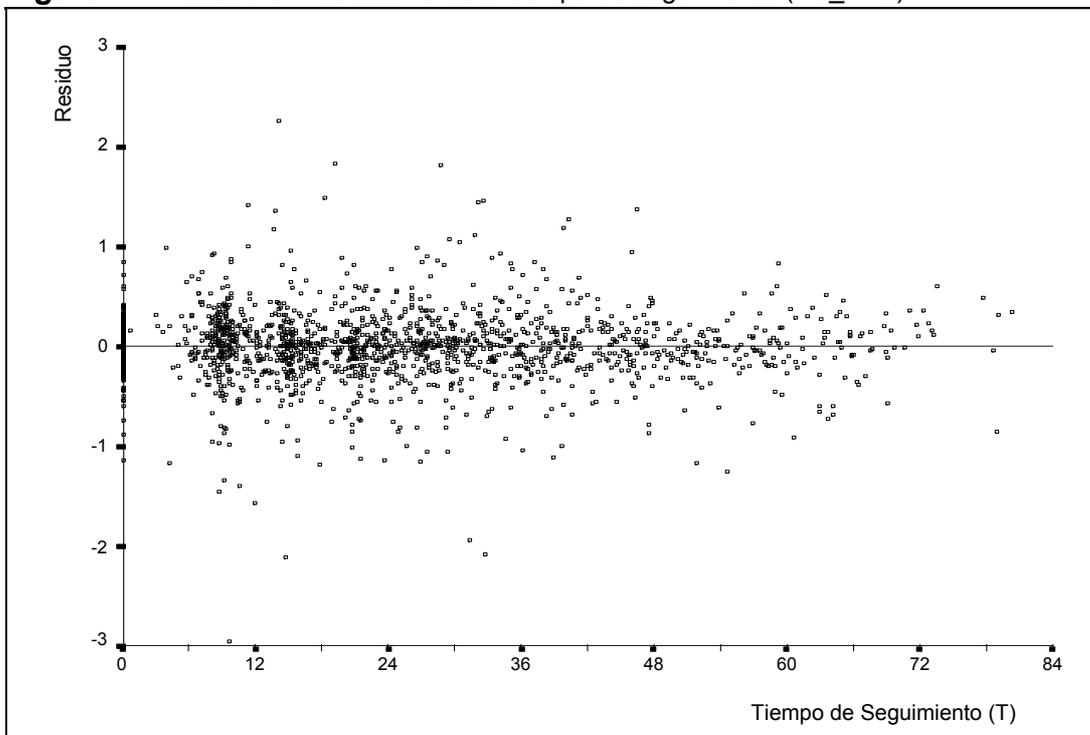


Figura 71. Muestra C: Residuo frente al tiempo de seguimiento (MJ_L1.9).



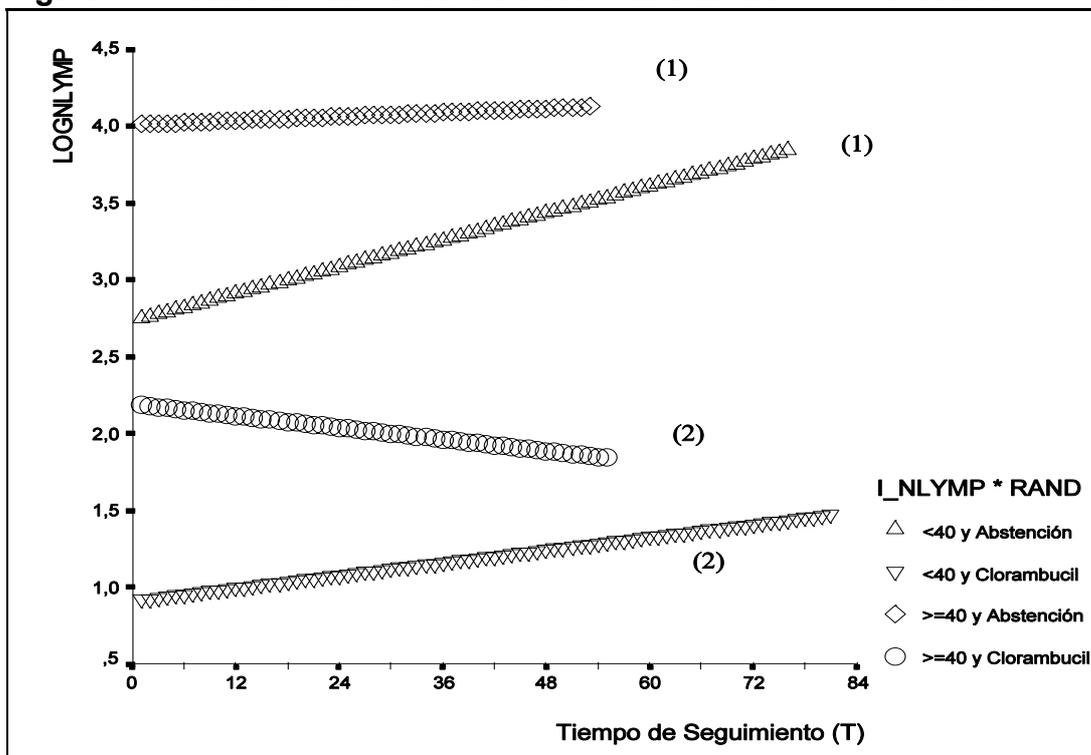
3. Modelo resumen de la evolución de LOGNLYMP.

El ajuste del modelo MJ_L1.9 en la muestra de contraste no nos permite admitir la necesidad de incluir la interacción I_NLYMP*RAND en la explicación de la variable LOGNLYMP. También permite observar que, en el instante t_0 de la escala temporal, la diferencia en el valor de LOGNLYMP de los individuos con niveles iniciales de linfocitos mayores o iguales a 80 o en el intervalo [40 a 80[no son significativas ($\alpha=0'05$). Por estas razones, procedimos a suprimir del modelo la interacción I_NLYMP*RAND y recategorizar el factor I_NLYMP para considerar sólo dos niveles iniciales de linfocitos: menores de 40 y mayores o iguales a $40 \times 10^9/l$. En la **Tabla 75** se recogen las estimaciones de los efectos fijos del modelo resumen para la evolución de LOGNLYMP en el estadio A. El efecto significativo del factor RAND es el resultado del descenso en el número de linfocitos después de comenzar el tratamiento con clorambucil. No se ha rechazado que este efecto sea igual en cada uno de los niveles iniciales de linfocitos (I_NLYMP). En general, se puede afirmar que la pendiente de evolución de LOGNLYMP en el tiempo es positiva. Sin embargo, es necesario señalar que los resultados obtenidos en los pacientes que presentaban nivel de linfocitos inicial igual o superior a 40 no son estables, ofreciendo resultados diferentes en la muestra de exploración y de contraste. Aunque no es muy acusada, en la **Figura 72** se resalta de nuevo la diferencia significativa en la pendiente de evolución según el tratamiento, cuando el nivel inicial de linfocitos era menor de 40. Aunque con ambos tratamientos LOGNLYMP tiende a aumentar, el aumento es más lento en los individuos tratados con clorambucil.

Tabla 75. Estadio A: Efectos fijos del modelo resumen para la evolución de LOGNLYMP.

Parámetro		Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		T para H ₀ : Parámetro=0	Prob> T
INTERCEPT		2'7350	0'0368	2'6628	2'8073	74'25	0'0000
I_NLYMP	>=40	1'2774	0'1168	1'0482	1'5065	10'93	0'0000
	<40	0'0000	'	'	'	'	'
RAND	Clor.	-1'8203	0'1047	-2'0256	-1'6149	-17'39	0'0000
	Abst.	0'0000	'	'	'	'	'
T		0'0146	0'0023	0'0101	0'0190	6'45	0'0000
T*I_NLYMP*RAND							
	>=40 Clor.	-0'0209	0'0080	-0'0366	-0'0052	-2'62	0'0089
	>=40 Abst.	-0'0124	0'0111	-0'0342	0'0095	-1'11	0'2667
	<40 Clor.	-0'0077	0'0037	-0'0150	-0'0003	-2'04	0'0412
	<40 Abst.	0'0000	'	'	'	'	'

Figura 72. Muestra C: Resumen de la evolución media de LOGNLYMP en estadio A



(1) indica que no existe diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.
 (2) indica diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.

B. Análisis de la Evolución de HB.

1. Las Hipótesis.

La hipótesis fundamental extraída del análisis exploratorio (Capítulo 7) afirma que la evolución de la concentración de hemoglobina es diferente, en los grupos de pacientes definidos por la interacción entre el tratamiento administrado (abstención terapéutica o clorambucil) y la localización de los pacientes según el factor ZONA. Además, la variabilidad de la concentración de hemoglobina es mayor entre los pacientes que recibieron tratamiento con clorambucil.

2. Ajuste del Modelo Jerárquico Seleccionado (MJ_H1.10).

Se encuentran algunas diferencias en las estimaciones de los componentes de la covarianza y efectos fijos del modelo MJ_H1.10 ajustado en la muestra de exploración (**Tabla 55** y **Tabla 57**) y de contraste (**Tabla 76** y **Tabla 77**); sin embargo, dichas diferencias no son significativas, lo que se puede comprobar mediante los correspondientes tests estadísticos para la diferencia de medias en las poblaciones de las que provienen ambas muestras.

El modelo de covarianza (**Tabla 76**) confirma la existencia de una variabilidad mayor de la concentración de hemoglobina unida a una menor variabilidad de los términos independientes de los modelos intraindividuales $-\sigma^2(a)$ - entre los pacientes tratados con clorambucil. Posiblemente, el aumento de la variabilidad en la concentración de hemoglobina esté provocando una mayor estabilidad en las estimaciones de los efectos aleatorios intraindividuales; en concreto en dichos términos independientes (a).

Tabla 76. Muestra C: Modelo para la Covarianza de HB en el Estadio A.

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		Z para H_0 : Parámetro=0	Prob> Z
Clorambucil σ^2 (a)	55'7283	9'4410	37'2242	74'2324	5'90	0'0000
σ^2 (b)	0'0822	0'0182	0'0464	0'1180	4'50	0'0000
Abstención σ^2 (a)	87'4068	13'0022	61'9230	112'890	6'72	0'0000
σ^2 (b)	0'0539	0'0162	0'0022	0'0858	3'32	0'0009
Clorambucil σ^2	85'9257	3'0834	79'8822	91'9692	27'87	0'0000
Abstención σ^2	65'3065	4'6716	56'1503	74'4627	13'97	0'0000

El test parcial del efecto de la interacción con el tiempo incluida en el modelo MJ_H1.10 es significativo ($p < 0'0001$), confirmando la existencia de patrones de evolución diferentes para HB según la localización de los pacientes por el factor ZONA y el tratamiento administrado (RAND). Lo más destacable sigue encontrándose en la evolución positiva de HB de los individuos tratados localizados en las zonas 5 ó 6 (**Tabla 77**); sin embargo conviene resaltar también la diferencia significativa en la pendiente de evolución según el grupo de tratamiento de los pacientes en la ZONA 8. La concentración de hemoglobina de los pacientes tratados con clorambucil disminuye más rápidamente. La misma diferencia, aunque no significativa ($p = 0'0542$), puede ser importante en los pacientes localizados en ZONA 9; sobre todo, si recordamos el resultado observado en la muestra de exploración, donde la pendiente de los individuos tratados ya era inferior, justificando la realización en la muestra C del test de un sólo lado para contrastar la hipótesis alternativa de que dicha pendiente realmente es menor. El contraste unilateral resulta significativo ($\alpha = 0'05$).

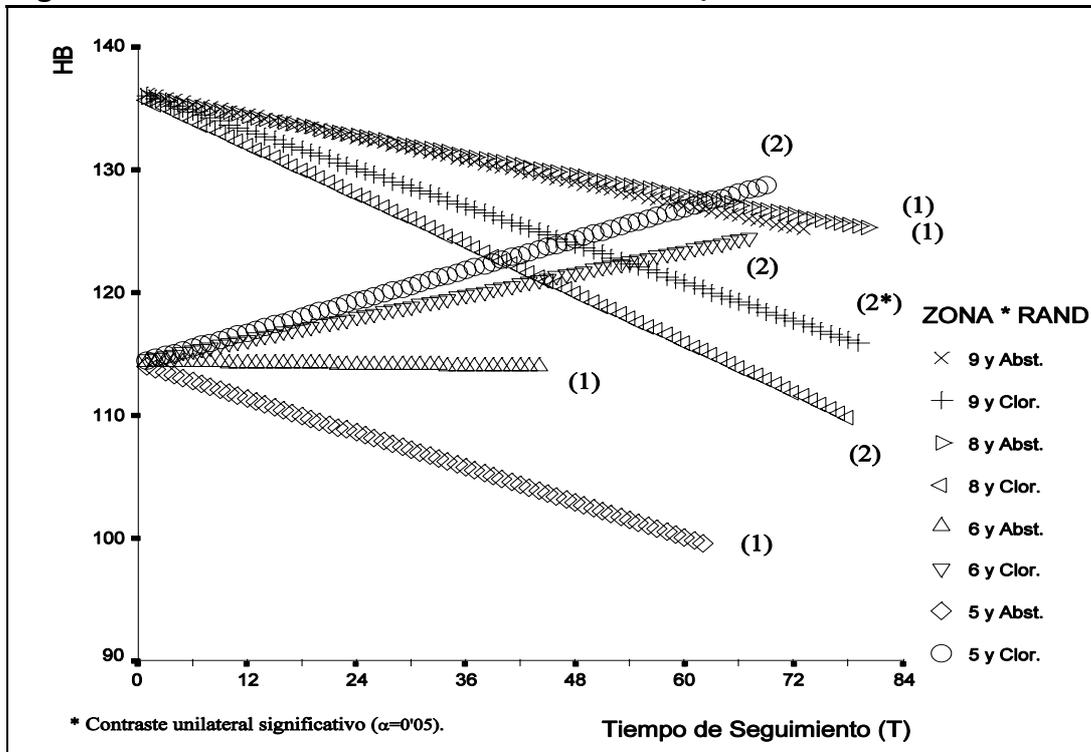
En la **Figura 73** presentamos la evolución media de HB según las estimaciones de los efectos fijos del modelo MJ_H1.10 obtenidas en la muestra de contraste. La representación se ha realizado cuidando de no incurrir en extrapolaciones y corresponde al sexo femenino. En los hombres sólo hay que sumar 12'80 en el instante inicial, porque las pendientes no son diferentes por sexo. Las pendientes de las rectas señaladas con el número (1) en el gráfico no son significativamente diferentes de las correspondientes a la clase de referencia. Si comparamos la **Figura 73** con la realizada en la muestra de exploración (**Figura 49**), ambas figuras sugieren la presencia de patrones de evolución diferentes según el tratamiento y el nivel inicial de concentración de hemoglobina. Cuando aplicamos el tratamiento a los pacientes con concentración de hemoglobina inicial compatible con la “normalidad” clínica (ZONAS 8 o 9), entonces los niveles de HB descienden en el tiempo, más rápidamente que si el paciente hubiese permanecido en abstención terapéutica. Sin embargo, los enfermos localizados en zona cinco o seis presentan valores iniciales de HB clínicamente “anormales” -por debajo del límite inferior del intervalo de referencia considerado “normal”-, pero el tratamiento con clorambucil no disminuye los niveles de hemoglobina en sangre periférica, e incluso los mejora, ya que la pendiente es positiva.

En la **Figura 74** y **Figura 75** se representan los diagramas de dispersión de los residuos frente a la predicción del modelo y el tiempo de seguimiento. Las representaciones no permiten apreciar tendencias que invaliden las suposiciones en las que se basa el modelo jerárquico. También estudiamos la normalidad del residuo mediante el correspondiente diagrama de normalidad, que mostraba una correlación de 0'97 entre los cuantiles de la muestra de residuos y los cuantiles de la distribución normal.

Tabla 77. Muestra C: Estimación y Contraste de Efectos fijos del MJ_H1.10 para HB.

Parámetro		Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		T para H ₀ : Parámetro=0	Prob> T	
INTERCEPT		136'2711	0'9969	134'3159	138'2263	136'70	0'0000	
SEXO	Hombre	12'8034	1'0762	10'6928	14'9141	11'90	0'0000	
	Mujer	0'0000	'	'	'	'	'	
ZONA	5	-22'0192	2'8343	-27'5780	-16'4604	-7'77	0'0000	
	6	-21'8949	2'2896	-26'3855	-17'4043	-9'56	0'0000	
	8	-0'2526	1'1931	-2'5926	2'0873	-0'21	0'8323	
	9	0'0000	'	'	'	'	'	
T		-0'1526	0'0392	-0'2294	-0'0758	-3'90	0'0001	
T*ZONA*RAND								
	5	Clor.	0'3629	0'1635	0'0423	0'6835	2'22	0'0265
	5	Abst.	0'0840	0'1500	-0'2102	0'3783	0'56	0'5755
	6	Clor.	0'3036	0'1392	0'0307	0'5766	2'18	0'0293
	6	Abst.	0'1427	0'1425	-0'1367	0'4222	1'00	0'3167
	8	Clor.	-0'1825	0'0620	-0'3040	-0'0610	-2'95	0'0033
	8	Abst.	0'0179	0'0611	-0'1018	0'1377	0'29	0'7690
	9	Clor.	-0'1057	0'0548	-0'2132	0'0019	-1'93	0'0542
	9	Abst.	0'0000	'	'	'	'	'

Figura 73. Muestra C: Evolución Media de HB en las mujeres del Estadio A.



(1) indica que no existe diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.
 (2) indica diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.

Figura 74. Muestra C: Dispersión del residuo frente a la predicción de HB (MJ_H1.10).

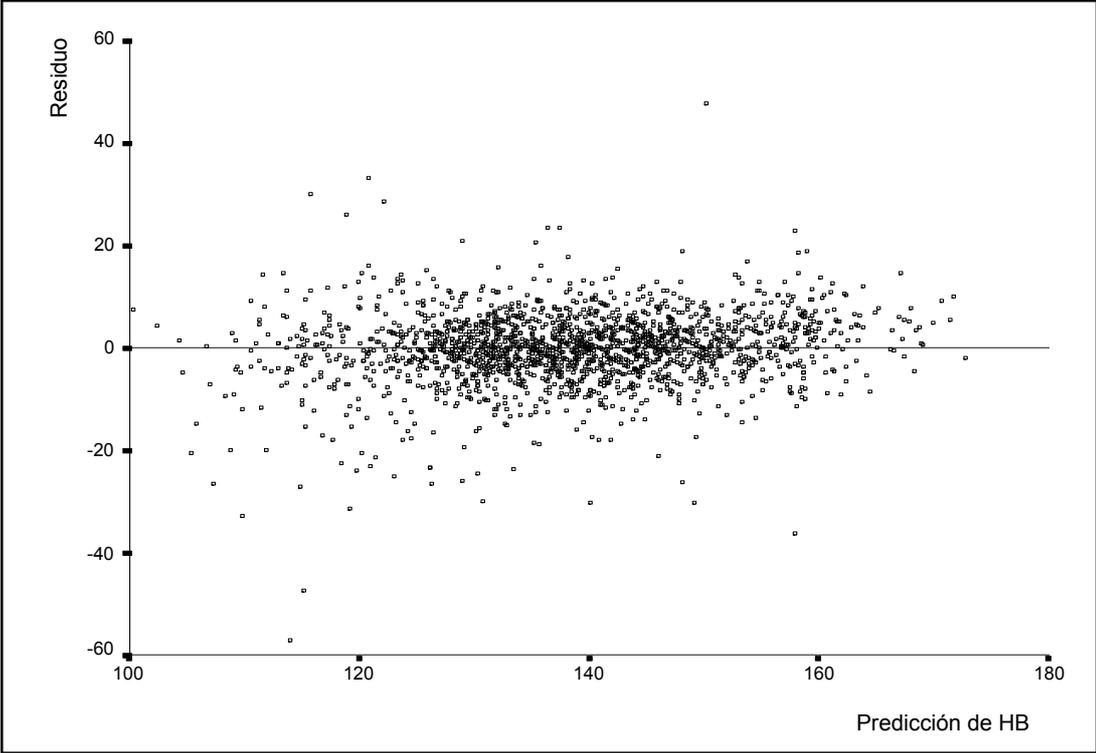
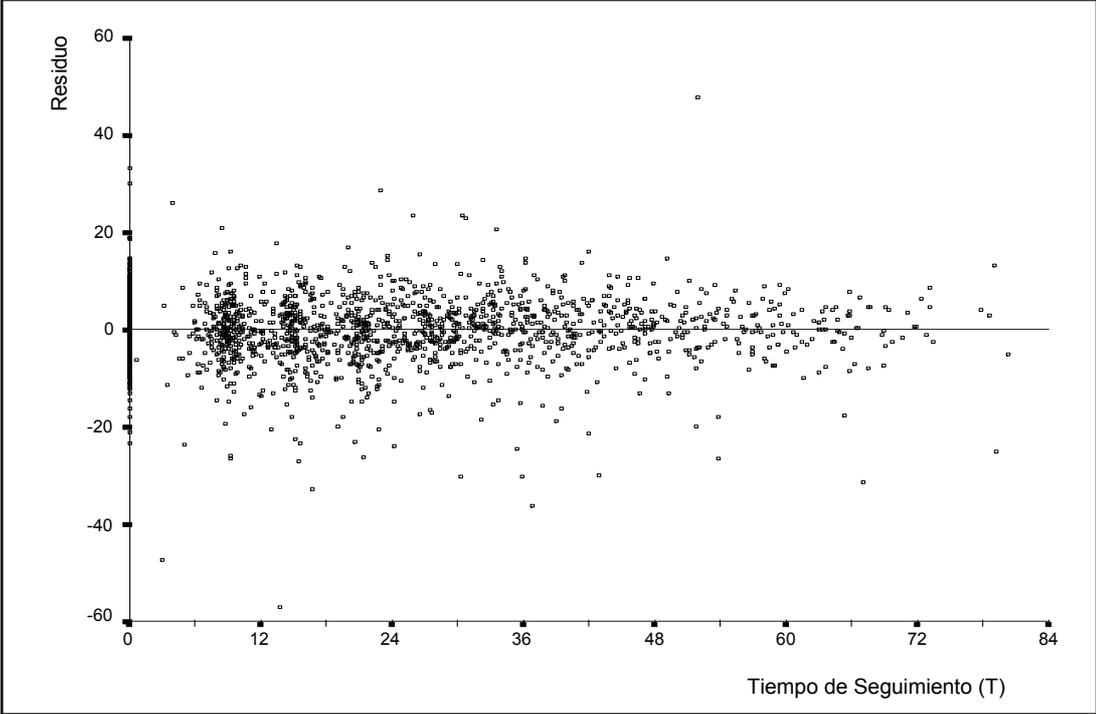


Figura 75. Muestra C: Residuo frente al tiempo de seguimiento (MJ_H1.10).



3. Modelo resumen de la evolución de HB.

Para resumir los patrones de evolución observados en la muestra de exploración y contraste, construimos un modelo jerárquico que incluye el factor zona con sólo dos clases: pacientes localizados en zona cinco o seis y pacientes situados en zona ocho o nueve. En la **Tabla 78** y la **Figura 76** se exponen, respectivamente, las estimaciones del modelo resumido en la muestra de contraste y la representación de la evolución media de HB según dicho modelo.

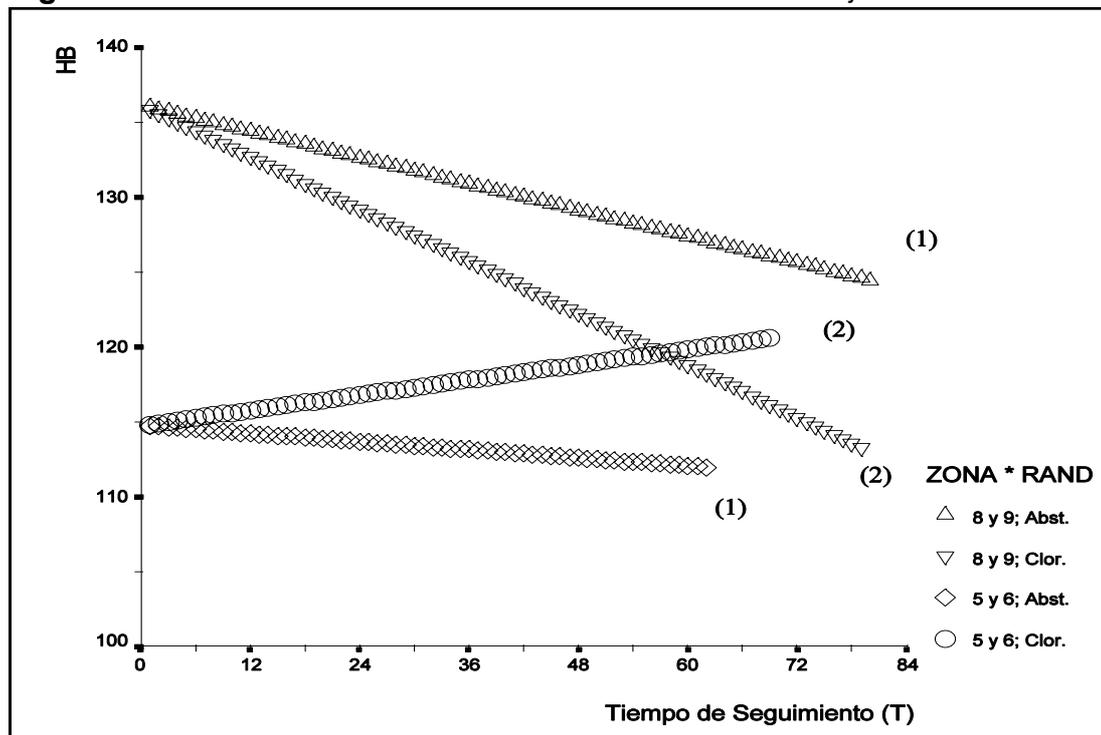
Al colapsar de esta forma los niveles de ZONA, este factor se convierte en el indicador de niveles iniciales de hemoglobina clínicamente “normal” (zonas 8 y 9) o “anormal” (zonas 5 y 6). El modelo precisa entonces considerar la interacción ZONA*sexo. Esta interacción recoge la disminución de la diferencia en HB por sexo, que se apuntaba en el análisis del balance inicial, cuando estudiamos los pacientes con niveles “anormales” de concentración de hemoglobina. Además, se puede comprobar como disminuye el error estándar de las estimaciones de los efectos sobre la pendiente de evolución, al colapsar las zonas, siendo ahora significativa la diferencia en la pendiente de los individuos tratados y en abstención, localizados en las zonas cinco y seis.

La representación de la **Figura 76** corresponde al sexo femenino. Para los hombres es necesario sumarle 13'59 en el instante inicial, si el paciente está localizado en las zonas con niveles de HB clínicamente “normales”, o sólo 6'17 g / litro, cuando la localización es en la zona cinco y seis. Las pendientes señaladas con el número (1) en el gráfico no son significativamente diferentes de la correspondiente a la clase de referencia.

Tabla 78. Muestra C: Efectos fijos del modelo resumen de la evolución de HB en estadio A.

Parámetro		Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		T para H ₀ : Parámetro=0	Prob> T
INTERCEPT		135'6996	0'8739	133'9859	137'4135	155'29	0'0000
SEXO	Hombre	13'5958	1'1162	11'4065	15'7850	12'18	0'0000
	Mujer	0'0000	'	'	'	'	'
ZONA	5 y 6	-16'7652	2'7646	-22'1874	-11'3431	-6'06	0'0000
	8 y 9	0'0000	'	'	'	'	'
T		-0'1466	0'0298	-0'2044	-0'0882	-4'93	0'0000
SEXO*ZONA							
	Hombre 5 y 6	-7'4179	3'4342	-14'1532	-0'6826	-2'16	0'0309
	Hombre 8 y 9	0'0000	'	'	'	'	'
	Mujer 5 y 6	0'0000	'	'	'	'	'
	Mujer 8 y 9	0'0000	'	'	'	'	'
T*ZONA*RAND							
	5 y 6 Clor.	0'3350	0'0807	0'1768	0'4931	4'15	0'0000
	5 y 6 Abst.	0'0904	0'0940	-0'0938	0'2746	0'96	0'3370
	8 y 9 Clor.	-0'1428	0'0423	-0'2258	-0'0598	-3'37	0'0008
	8 y 9 Abst.	0'0000	'	'	'	'	'

Figura 76. Muestra C: Resumen de la evolución media de HB en mujeres del estadio A.



(1) indica que no existe diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.
 (2) indica diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.

C. Análisis de la Evolución de PLAQ.

1. Las Hipótesis.

Tres son las hipótesis fundamentales respecto a la evolución del recuento plaquetario (PLAQ), extraídas del análisis exploratorio realizado en el capítulo 7. La primera afirma que el número de plaquetas sufre un descenso tras el inicio del tratamiento con clorambucil. Este descenso es igual en cualquiera de las localizaciones o niveles del factor ZONA. En segundo lugar, la pendiente de evolución de PLAQ es diferente según ZONA. La pendiente de los pacientes localizados en zona nueve es significativamente diferente de la que tienen los individuos en la zona seis u ocho. Por último, la administración de clorambucil incrementa la variabilidad del recuento de plaquetas.

2. Ajuste del modelo seleccionado (MJ_P1.12).

Las diferencias observadas en las estimaciones de los parámetros de covarianza y efectos fijos del modelo MJ_P1.12, obtenidas en las muestras de exploración (**Tabla 58** y **Tabla 60**) y contraste (**Tabla 79** y **Tabla 80**), no son importantes. Los tests correspondientes al contraste de la diferencia de medias en las poblaciones de las que proceden ambas muestras no son significativos.

El modelo de covarianza (**Tabla 79**) confirma la existencia de una variabilidad mayor en el recuento de plaquetas (PLAQ) en los pacientes tratados con clorambucil.

Tabla 79. Muestra C: Modelo para la Covarianza de PLAQ en el Estadio Pronóstico A.

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		Z para H_0 : Parámetro=0	Prob> Z
σ^2 (a)	1989'1257	213'6863	1570'30	2407'94	9'31	0'0000
σ^2 (b)	0'5574	0'1671	0'2299	0'8851	3'34	0'0009
Clorambucil σ^2	1704'2221	96'7195	1514'65	1893'78	17'62	0'0000
Abstención σ^2	1340'8138	91'1461	1162'17	1519'45	14'71	0'0000

El test parcial correspondiente al efecto del tratamiento (RAND) también es significativo en la muestra de contraste ($p < 0'0106$), confirmando un descenso del recuento plaquetario al principio del seguimiento en los tratados con clorambucil.

El test parcial del efecto de la interacción considerada en MJ_P1.12 es significativo ($p < 0'0001$), confirmándose la existencia de patrones de evolución diferentes de PLAQ según la localización de los pacientes por el factor ZONA. En la muestra de contraste, la diferencia fundamental sigue encontrándose en las pendientes de evolución de los pacientes localizados en la zona nueve respecto a los que se encuentran en las zonas cinco u ocho (**Tabla 80**). La pendiente de evolución de los pacientes en la zona cinco es ahora positiva; aunque no muy diferente de cero. Algo similar ocurre con los pacientes localizados en la zona ocho. Los pacientes en zona seis presentan una evolución muy negativa, pero la diferencia con la pendiente de los de zona nueve no resulta significativa en la muestra de contraste, lo que no nos permite confirmar patrones de evolución diferentes en ambas zonas. Sin embargo, si consideramos que en la muestra de exploración la pendiente de los pacientes

en zona seis era negativa, se puede realizar el test unilateral, que ofrece un resultado en el límite de la significación ($p=0.0561$).

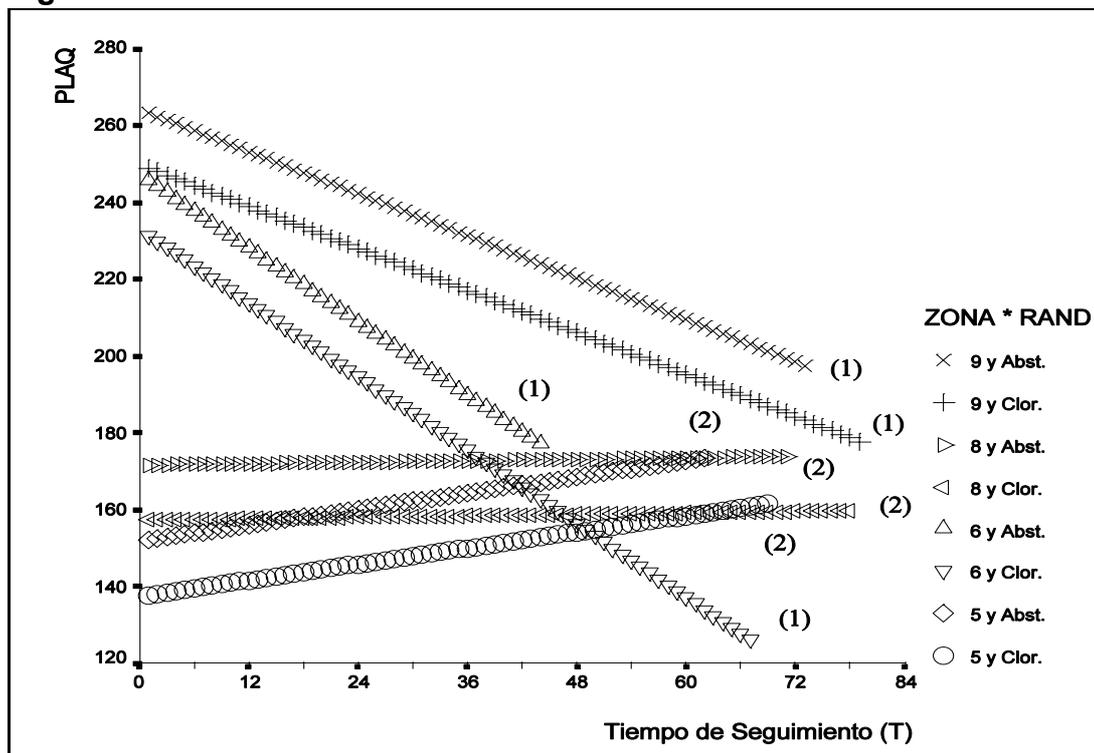
En la **Figura 77** se puede observar la evolución media del número de plaquetas según las estimaciones de los efectos del modelo MJ_P1.12 obtenidas en la muestra de contraste. La representación es muy similar a la obtenida en la muestra de exploración (**Figura 53**), repitiéndose la evolución muy negativa del recuento de plaquetas de los pacientes localizados en la zona seis, **que a pesar de no ser estadísticamente diferente de la pendiente de los pacientes en la zona nueve, puede tener algún significado biológico o incluso clínico de interés.**

Valoramos el ajuste del modelo en la muestra de contraste mediante los diagramas de dispersión del residuo frente a la predicción del modelo (**Figura 78**) y el tiempo de seguimiento (**Figura 79**). Ninguna de las representaciones permite invalidar la suposición de homocedasticidad del modelo jerárquico. También construimos el diagrama de normalidad del residuo, que muestra una correlación de 0.97 entre los cuantiles de la muestra de residuos y los correspondientes la distribución normal.

Tabla 80. Muestra C: Estimación y Contraste de los efectos fijos del MJ_P1.12 para PLAQ.

Parámetro		Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		T para H ₀ : Parámetro=0 Prob> T	
INTERCEPT		264'2612	5'0610	254'3352	274'1872	52'22	0'0000
ZONA	5	-112'416	14'6307	-141'111	-83'7211	-7'68	0'0000
	6	-16'7904	12'0845	-40'4914	6'9107	-1'39	0'1649
	8	-92'5704	6'3441	-105'013	-80'1279	-14'59	0'0000
	9	0'0000	'	'	'	'	'
RAND	Clor.	-14'3163	5'5931	-25'2860	-3'3465	-2'56	0'0106
	Abst.	0'0000	'	'	'	'	'
T		-0'9121	0'1144	-1'1364	-0'6879	-7'98	0'0000
T*ZONA	5	1'2606	0'4362	0'4051	2'1161	2'89	0'0039
	6	-0'6857	0'4314	-1'5317	0'1603	-1'59	0'1121
	8	0'9435	0'1810	0'5885	1'2984	5'21	0'0000
	9	0'0000	'	'	'	'	'

Figura 77. Muestra C: Evolución Media de PLAQ en el Estadio A.



(1) indica que no existe diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.
 (2) indica diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.

Figura 78. Muestra C: Residuo frente a la predicción de PLAQ (MJ_P1.12).

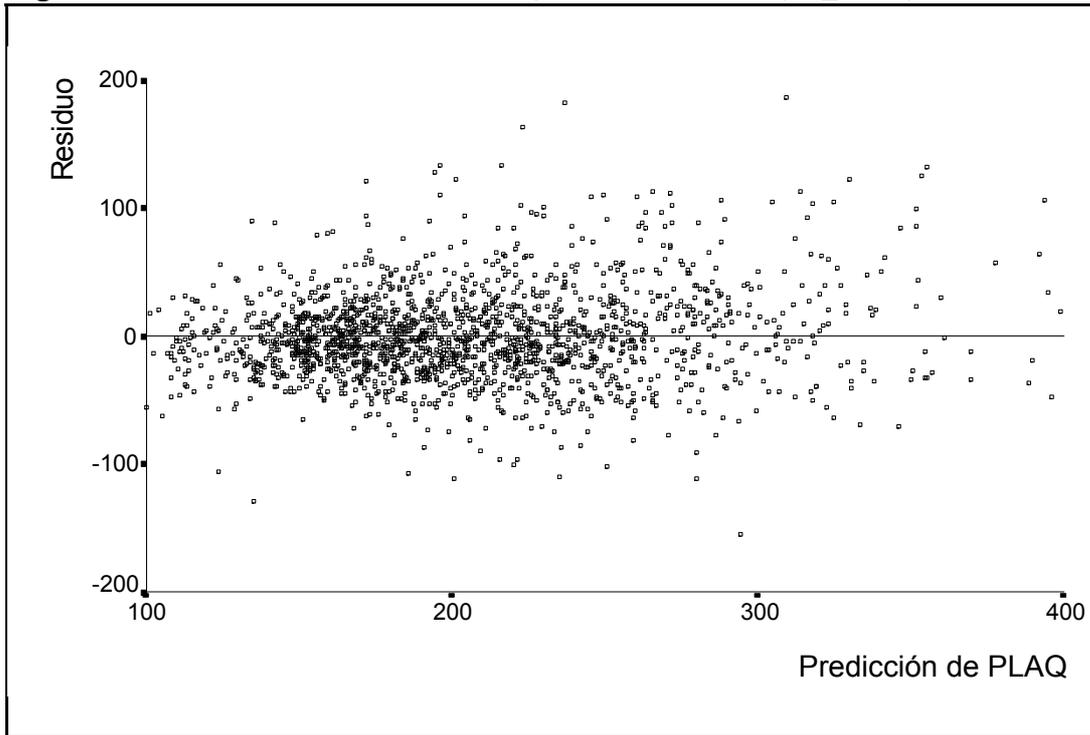
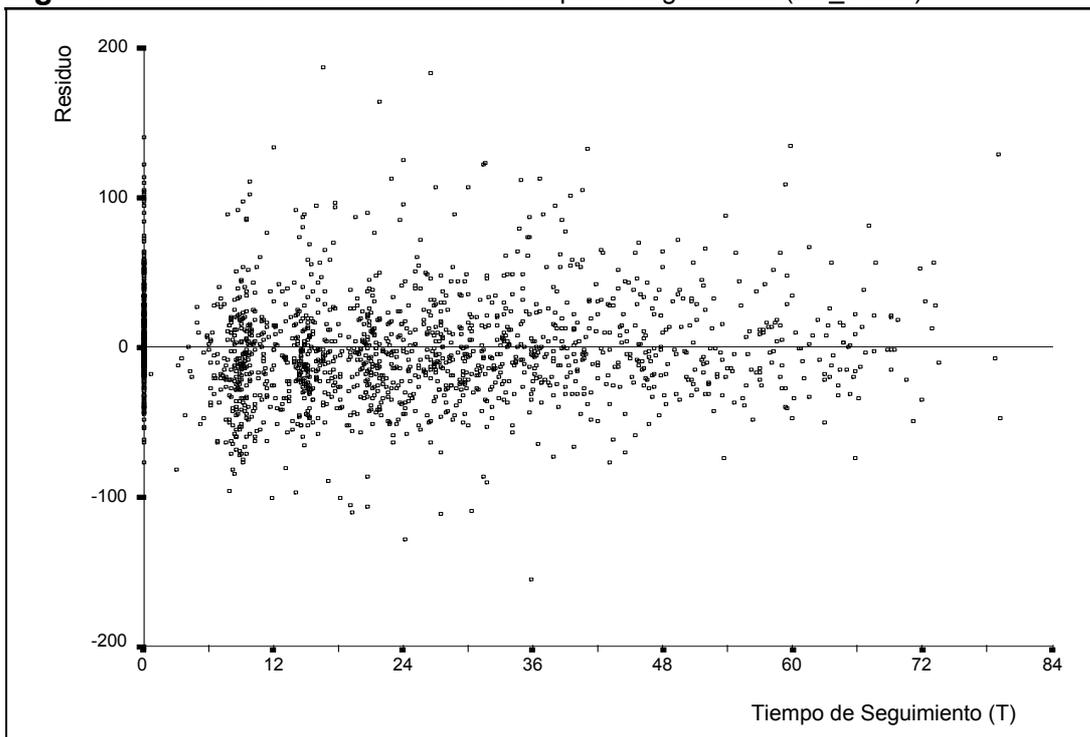


Figura 79. Muestra C: Residuo frente al tiempo de seguimiento (MJ_P1.12).



3. Modelo resumen de la evolución de PLAQ.

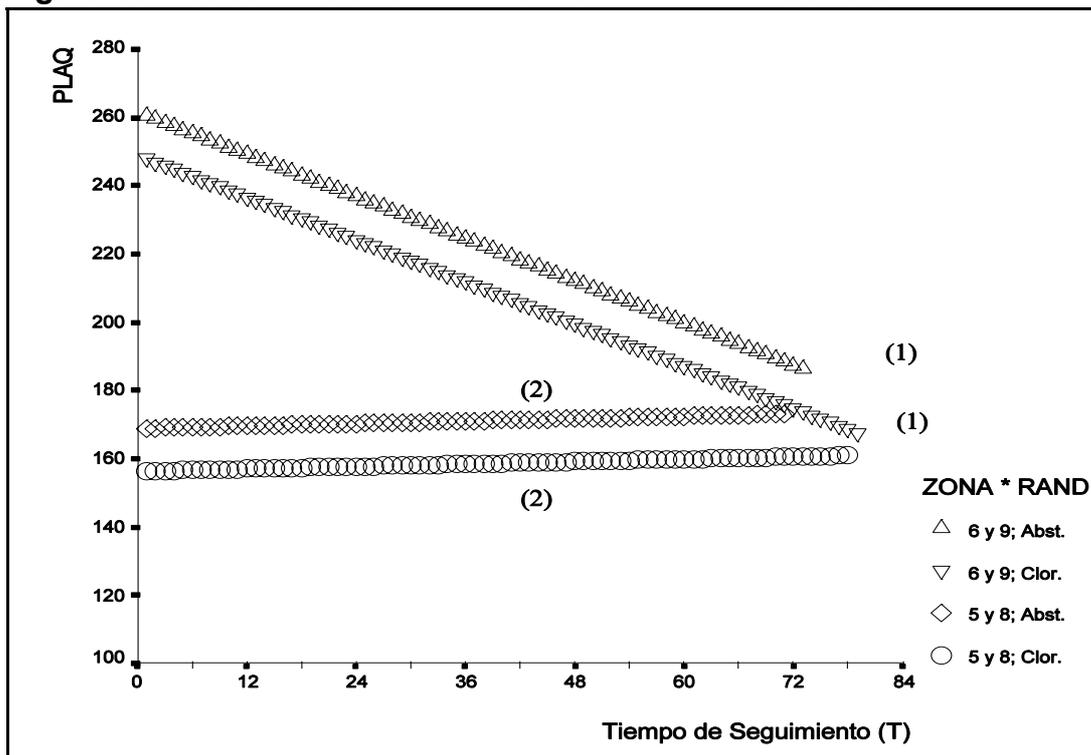
Tanto en la muestra de exploración como en la de contraste, hemos observado que los pacientes con un nivel inicial de plaquetas igual o menor de 200×10^9 /litro (ZONAS 5 y 8) tienden a mantener su recuento plaquetario en dichos valores iniciales, mientras que los enfermos con un número de plaquetas superior (ZONAS 6 y 9) ven como su número de plaquetas tiende a disminuir. Por esta razón, en el modelo resumen de la evolución de las plaquetas incluiremos zona con sólo dos clases, correspondientes a los niveles iniciales de plaquetas ya mencionados. Colapsar las zonas cinco y ocho se justifica suficientemente, si consideramos que la diferencia en los efectos sobre la pendiente de PLAQ no era significativa en ninguna de las dos muestras. Sin embargo, colapsar las zonas seis y nueve puede tener una justificación más difícil, si recordamos que en la muestra de exploración existía diferencia significativa en el efecto sobre la pendiente.

En la **Tabla 81** se recogen las estimaciones de los efectos fijos del modelo resumen para la evolución de plaquetas en la muestra de contraste. La **Figura 80** representa la evolución de la media de PLAQ, basada en dichas estimaciones. Las dos pendientes representadas en la figura son significativamente diferentes.

Tabla 81. Muestra C: Efectos fijos del modelo final para la evolución de PLAQ (Estadio A).

Parámetro		Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		T para H ₀ : Parámetro =0	Prob> T
INTERCEPT		261'5359	4'8401	252'0431	271'0287	54'03	0'0000
ZONA	5 y 8	-92'6840	5'9946	-104'441	-80'9270	-15'46	0'0000
	6 y 9	0'0000	'	'	'	'	'
RAND	Clor.	-12'5351	5'5933	-23'5052	-1'5651	-2'24	0'0251
	Abst.	0'0000	'	'	'	'	'
T		-1'0299	0'1142	-1'2539	-0'8060	-9'02	0'0000
T*ZONA	5 y 8	1'0891	0'1794	0'7373	1'4409	6'07	0'0000
	6 y 9	0'0000	'	'	'	'	'

Figura 80. Muestra C: Resumen de la evolución media de PLAQ en estadio A.



(1) indica que no existe diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.
 (2) indica diferencia significativa con la pendiente de la clase de referencia.

III. ANÁLISIS DE EVOLUCIÓN EN EL ESTADIO PRONÓSTICO B.

La cohorte de pacientes clasificados en el estadio B en la muestra de contraste está compuesta por 195 pacientes sobre los que se han efectuado 837 observaciones o balances hematológicos. A dichos pacientes se les asignó de forma aleatoria el tratamiento con clorambucil -97 pacientes- o COP -98 pacientes-. La comparación de la media o de la varianza de las tres variables respuesta -LOGNLYMP, HB y PLAQ- medidas en el balance inicial, no descubre diferencias significativas ($\alpha=0'005$) por grupo de tratamiento (RAND).

El análisis de la muestra de exploración nos ha permitido describir un patrón único de evolución para la evolución de LOGNLYMP o de HB en este estadio. Sin embargo, la pendiente de evolución del recuento de plaquetas era significativamente diferente según el tratamiento seguido por los pacientes. Los modelos seleccionados en la muestra de exploración se ajustan ahora a la muestra de contraste. En caso de que se confirmen los patrones de evolución, ofreceremos un modelo resumen de la evolución media de PLAQ, ajustado en la muestra de contraste.

A pesar de no haber encontrado diferentes patrones de evolución para LOGNLYMP ni HB, ajustaremos los modelos seleccionados para poder comparar las pendientes de evolución en el tiempo, y comprobar si dichas pendientes son similares en los diferentes estadios pronóstico. También comprobaremos la compatibilidad de las estimaciones de covarianza en ambas muestras y el comportamiento del modelo en la muestra de contraste.

A. Análisis de la evolución de LOGNLYMP.

En la **Tabla 82** y **Tabla 83** se recogen las estimaciones de los parámetros de covarianza y efectos fijos del modelo de evolución (MJ_L2.13) para LOGNLYMP, en los pacientes clasificados en el estadio B incluidos en la muestra de contraste. Las diferencias con respecto a las estimaciones realizadas en la muestra de exploración no son importantes (**Tabla 61** y **Tabla 63**), como se puede comprobar realizando los correspondientes tests de hipótesis para la diferencia de medias en las poblaciones de las que proceden ambas muestras.

Tabla 82. Muestra C: Modelo para la Covarianza de LOGNLYMP en el estadio B.

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		Z para H ₀ : Parámetro=0	Prob.> Z
σ^2 (a)	1'2564	0'1857	0'8923	1'6205	6'76	0'0000
σ^2 (b)	0'0016	0'0003	0'0010	0'0023	4'95	0'0000
σ^2	0'3026	0'0237	0'2562	0'3492	12'76	0'0000

Tabla 83. Muestra C: Estimación de los efectos del modelo MJ_L2.13 para LOGNLYMP.

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		T para H ₀ : Parámetro=0	Prob.> T
INTERCEPT	0'8873	0'1315	0'6291	1'1455	6'75	0'0000
I_NLYMP >=80	1'3132	0'2614	0'7999	1'8266	5'02	0'0000
[40-80[0'6673	0'2457	0'1849	1'1497	2'72	0'0068
<40	0'0000	'	'	'	'	'
T	0'0243	0'0046	0'0153	0'0333	5'28	0'0000

Los resultados obtenidos en ambas muestras permiten afirmar que existe un descenso en el número de linfocitos poco después de comenzar el tratamiento. Este descenso es igual con clorambucil y COP, por lo que se mantiene la diferencia en el número inicial de linfocitos. Tras el descenso inicial, la evolución de LOGNLYMP en el estadio B es ascendente, independientemente del tratamiento administrado (COP o Clorambucil). Dado que la pendiente de evolución es única, las diferencias iniciales persisten a lo largo del tiempo. Si comparamos estos resultados con los obtenidos en el estadio A, el aumento de linfocitos parece ser ligeramente más rápido en los pacientes incluidos en B, pero esta afirmación precisa un contraste más exhaustivo.

Valoramos el ajuste del modelo en la muestra de contraste mediante los correspondientes diagramas de dispersión del residuo frente a la predicción del modelo (**Figura 81**) y el tiempo de seguimiento (**Figura 82**), no observando ningún patrón particular de heterocedasticidad. También estudiamos la distribución del residuo, mediante un diagrama de normalidad; la correlación entre los cuantiles de la muestra de residuos y los de la normal es de 0'98 .

Figura 81. Muestra C: Residuo frente a la predicción de LOGNLYMP (MJ_L2.13).

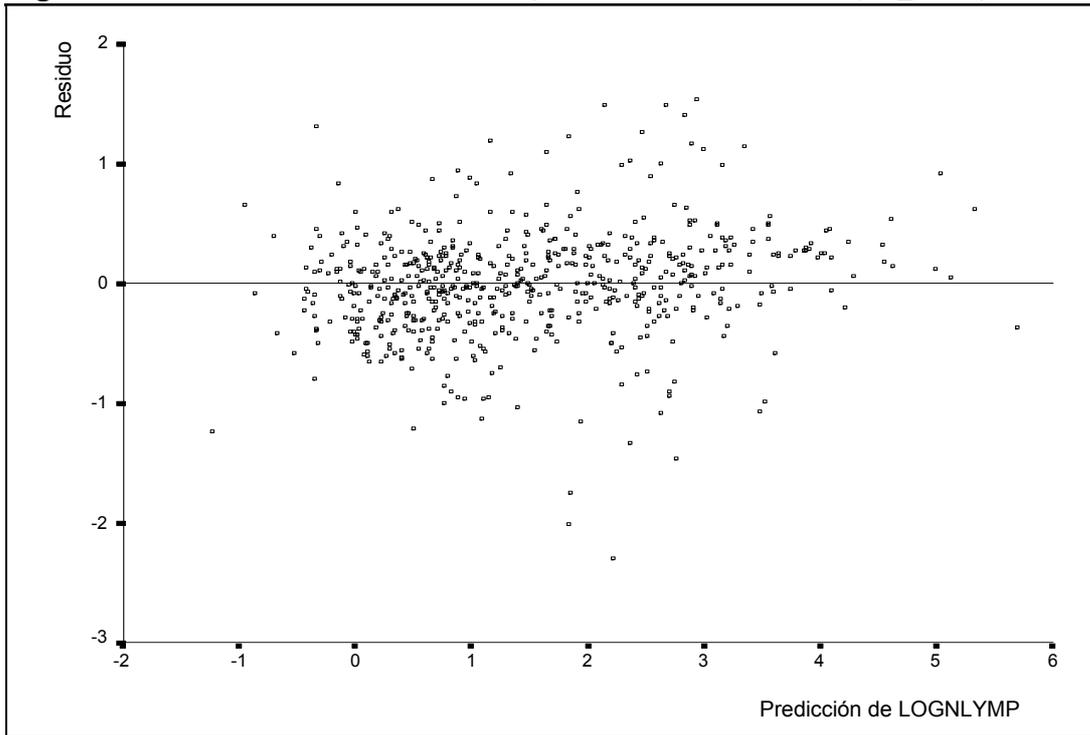
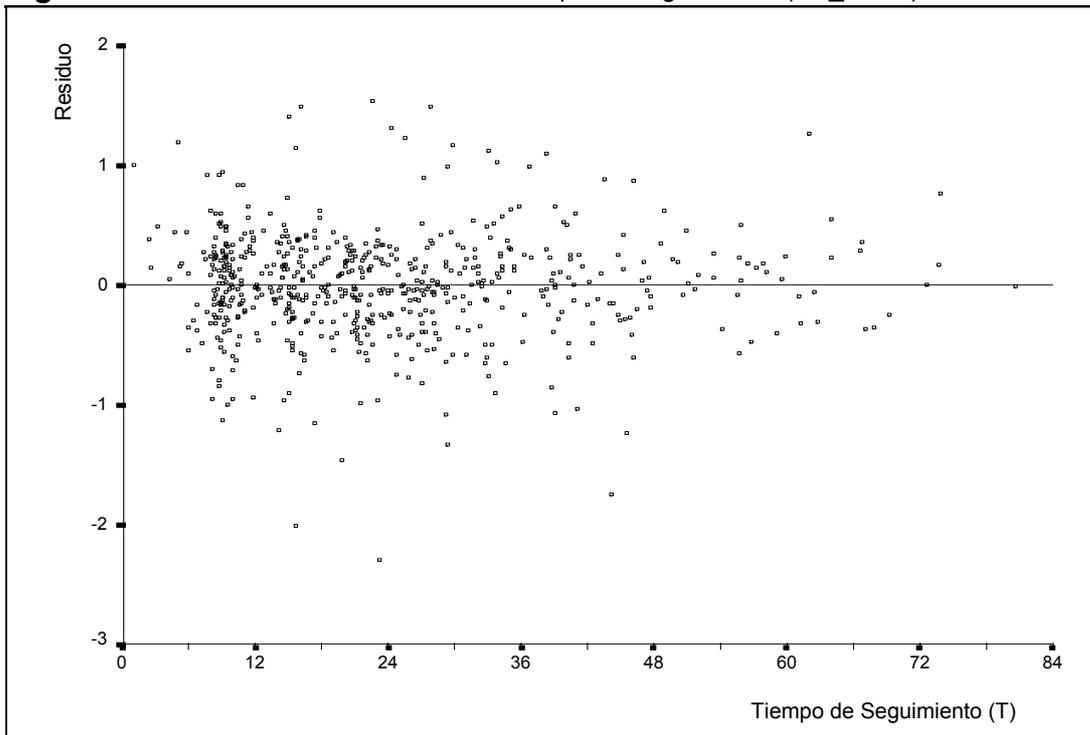


Figura 82. Muestra C: Residuo frente al tiempo de seguimiento (MJ_L2.13).



B. Análisis de la evolución de HB.

La **Tabla 84** y **Tabla 85** exponen las estimaciones y contraste de los parámetros del modelo MJ_H2.10 para la evolución de HB en los pacientes clasificados en el estadio B de la muestra de contraste. Las diferencias con las estimaciones obtenidas de la muestra de exploración (**Tabla 64** y **Tabla 66**) no son importantes; los tests correspondientes al contraste de la diferencia de medias en las poblaciones de las que proceden ambas muestras no son significativos.

Tabla 84. Muestra C: Modelo para la Covarianza de HB en el estadio B.

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		Z para H_0 : Parámetro=0	Prob> Z
σ^2 (a)	64'5193	12'1491	40'7074	88'3313	5'31	0'0000
σ^2 (b)	0'2520	0'0606	0'1331	0'3710	4'15	0'0000
σ^2	102'6650	6'7464	89'4423	115'887	15'22	0'0000

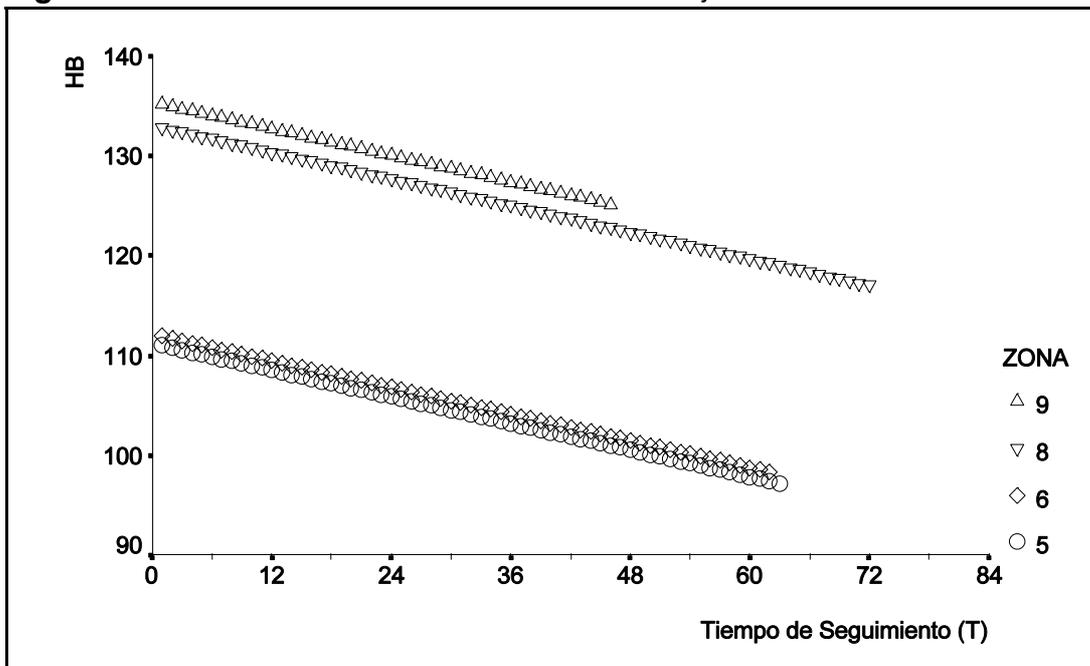
La estimación de la varianza σ^2 es la mayor de todas las realizadas (**Tabla 84**). Esta observación confirma un aumento de la variabilidad de HB producido por el tratamiento, pues todos los individuos en el estadio B reciben quimioterapia (COP o Clorambucil).

Tabla 85. Muestra C: Estimación y Contraste de efectos fijos del MJ_H2.10 para HB.

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		T para H_0 : Parámetro=0	Prob> T
INTERCEPT	135'4068	1'8128	131'8485	138'9651	74'70	0'0000
SEXO						
Hombre	11'4125	1'7480	7'9813	14'8436	6'53	0'0000
Mujer	0'0000	'	'	'	'	'
ZONA						
5	-24'1819	2'2600	-28'6180	-19'7458	-10'70	0'0000
6	-23'2617	2'6365	-28'4369	-18'0865	-8'82	0'0000
8	-2'3257	1'8706	-5'9976	1'3461	-1'24	0'2141
9	0'0000	'	'	'	'	'
T	-0'2226	0'0551	-0'3308	-0'1145	-4'04	0'0001

La diferencia en la concentración de hemoglobina de los pacientes de las zonas 8 y 9, respecto a los de la zona 5 o 6, se mantiene a lo largo del seguimiento. Además, HB descende en el tiempo, independientemente del tratamiento o de la localización inicial por zona (**Figura 83**).

Figura 83. Muestra C: Evolución media de HB en las mujeres del estadio B.



La pendiente de evolución de la concentración de hemoglobina (**Tabla 85**) no es muy diferente de la que presentan los individuos del estadio A, localizados en la zona 8 o 9 y tratados con clorambucil. Sin embargo, esta afirmación precisa un contraste más riguroso.

Los diagramas de dispersión del residuo frente a la predicción del modelo (**Figura 84**) y el tiempo de seguimiento (**Figura 85**) no permiten apreciar ningún patrón de heterocedasticidad que pueda cuestionar las suposiciones en las que se basa el modelo jerárquico, aunque se observan algunos "outliers". El diagrama de normalidad del residuo muestra una correlación de 0'99 entre los cuantiles de la muestra de residuos y los correspondientes a la distribución normal.

Figura 84. Muestra C: Residuo frente a la predicción de HB (MJ_H2.10).

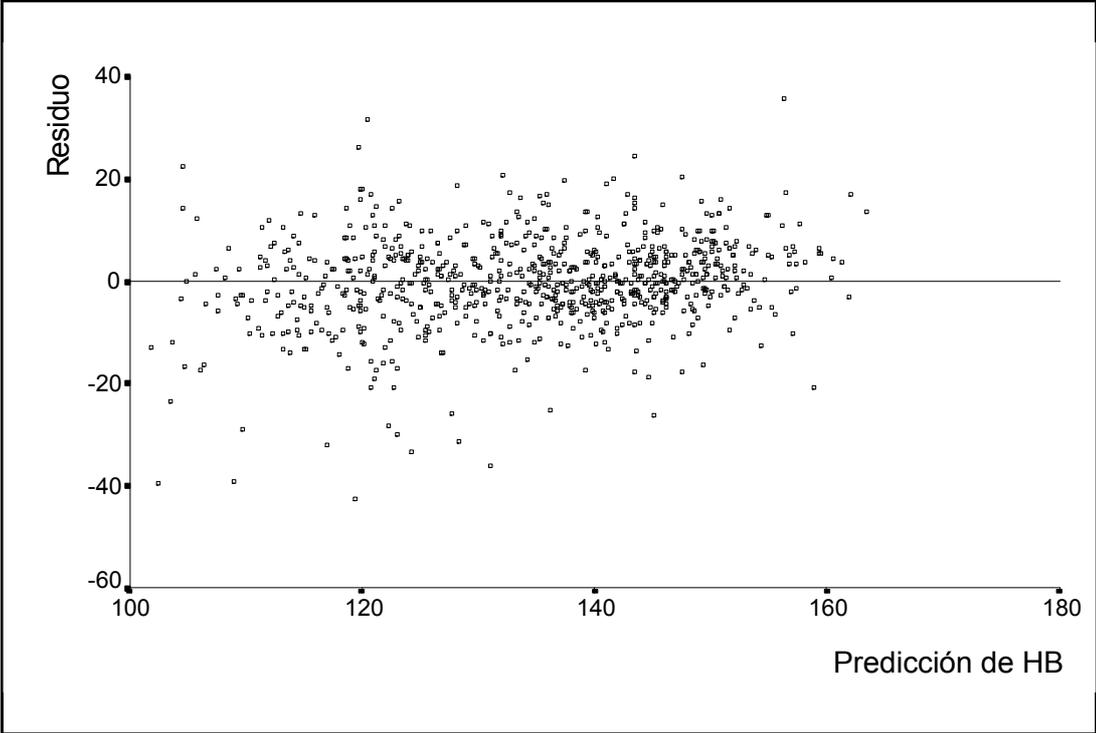
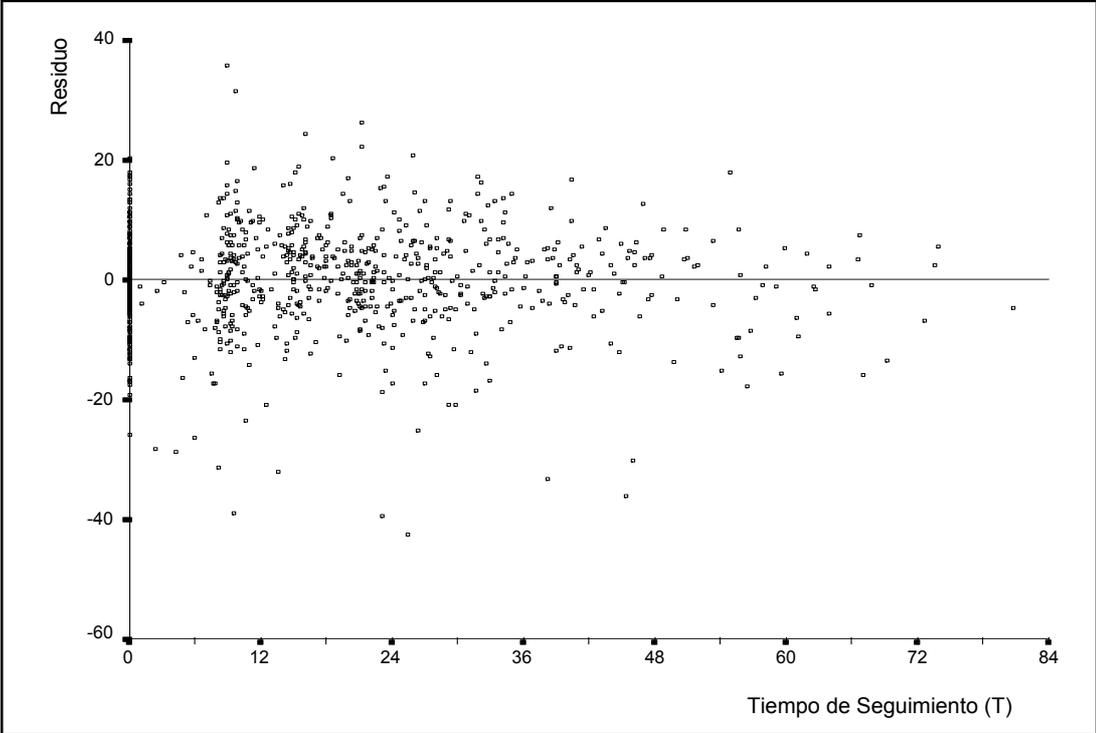


Figura 85. Muestra C: Residuo frente al tiempo de seguimiento (MJ_H2.10).



C. Análisis de la evolución de PLAQ.

1. Las Hipótesis.

Las hipótesis fundamentales extraídas del análisis exploratorio realizado en el capítulo 7 afirman que el número inicial de linfocitos (I_NLYMP), la localización según ZONA y el tratamiento administrado (RAND) producen efectos significativos sobre la pendiente de evolución del recuento de plaquetas en los pacientes del estadio B.

2. Ajuste del modelo seleccionado (MJ_P2.9).

En la **Tabla 86** y **Tabla 87** presentamos las estimaciones de los parámetros del modelo MJ_P2.9 para la evolución de PLAQ en los individuos de la muestra de contraste (C) clasificados en el estadio pronóstico B. Las diferencias entre dichas estimaciones y las obtenidas a partir de la muestra de exploración (**Tabla 67** y **Tabla 69**) no son importantes, como se comprueba mediante los correspondientes tests para la diferencia de medias en las poblaciones de las que proceden ambas muestras.

Tabla 86. Muestra C: Modelo para la Covarianza de PLAQ en el estadio B.

Parámetro	Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		Z para H ₀ : Parámetro=0	Prob> Z
σ^2 (a)	1254'0122	248'2052	767'53	1740'48	5'05	0'0000
σ^2 (b)	2'6475	0'6419	1'38	3'90	4'12	0'0000
σ^2	2005'4063	151'3018	1708'86	2301'95	13'25	0'0000

Tabla 87. Muestra C: Estimación y Contraste de los efectos fijos del MJ_P2.9 para PLAQ.

Parámetro		Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		T para H ₀ : Parámetro=0 Prob> T	
INTERCEPT		258'9707	6'5620	246'09	271'85	39'47	0'0000
ZONA	5	-108'2210	11'1632	-130'13	-86'30	-9'69	0'0000
	6	-12'1106	12'9933	-37'61	13'39	-0'93	0'3516
	8	-95'0232	9'2781	-113'23	-76'81	-10'24	0'0000
	9	0'0000	'	'	'	'	'
T		-2'1370	0'3929	-2'90	-1'36	-5'44	0'0000
T*I_NLYMP	>=80	-0'5631	0'6088	-1'75	0'63	-0'92	0'3553
	[40-80[-0'7846	0'4998	-1'76	0'19	-1'57	0'1169
	<40	0'0000	'	'	'	'	'
T*ZONA	5	2'5344	0'6628	1'23	3'83	3'82	0'0001
	6	0'0085	0'7592	-1'48	1'49	0'01	0'9911
	8	1'7269	0'5073	0'73	2'72	3'40	0'0007
	9	0'0000	'	'	'	'	'
T*RAND	COP	1'4194	0'3990	0'63	2'20	3'56	0'0004
	Clor.	0'0000	'	'	'	'	'

Las estimaciones del componente de la varianza σ^2 en los estadios A y B con las muestras de exploración o contraste (**Tabla 58**, **Tabla 67**, **Tabla 79** y **Tabla 86**), respaldan un aumento de la variabilidad de PLAQ en los pacientes tratados.

El contraste de la homogeneidad de las pendientes en la muestra de contraste es significativo ($p=0'0001$), **confirmando la existencia de un efecto de la localización por ZONA** sobre la pendiente de evolución del número de plaquetas. Las plaquetas de los pacientes de la zona seis o nueve disminuyen, mientras que el efecto de la localización en zona cinco u ocho, tiende a estabilizar en el tiempo el recuento plaquetario. También es significativo el efecto del tratamiento sobre la pendiente de evolución del número de plaquetas ($p=0'0004$). **Se confirma el efecto positivo del tratamiento con COP.**

El test parcial para contrastar la igualdad de las pendientes según el nivel inicial de linfocitos (I_NLYMP) no es significativo ($p=0'2419$). Dado nuestro criterio conservador, que exige un test parcial significativo en las muestras de exploración y contraste, **no podemos admitir la existencia de patrones de evolución diferente del recuento plaquetario según I_NLYMP** . El criterio se escogió con el fin de disminuir la probabilidad de cometer errores, evitando aceptar diferencias en las pendientes de evolución que únicamente fueran debidas al azar.

Los diagramas de dispersión del residuo frente a la predicción del modelo MJ_P2.9 (**Figura 86**) y el tiempo de seguimiento (**Figura 87**) no muestran ningún patrón claro de heterocedasticidad en la muestra de contraste, aunque existen algunos “outliers”. También estudiamos la distribución del residuo, mediante el correspondiente diagrama de normalidad: la correlación entre los cuantiles de la muestra de residuos y los de la distribución normal es de 0'98.

Figura 86. Muestra C: Residuo frente a la predicción de PLAQ (MJ_P2.9).

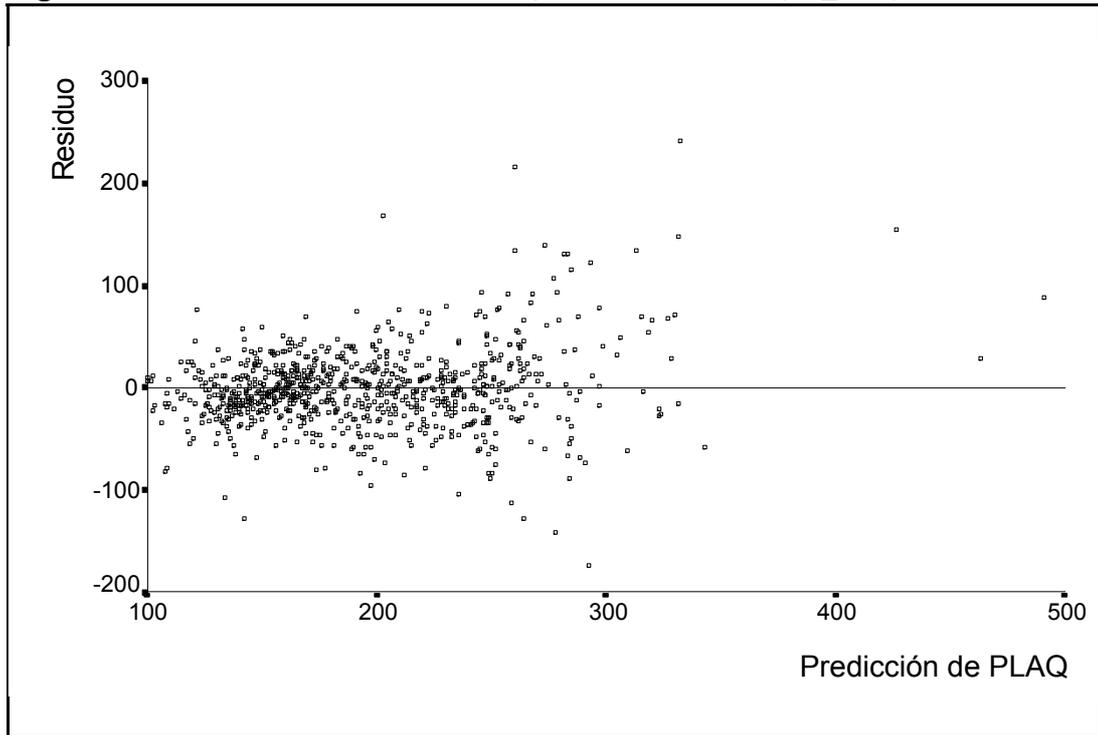
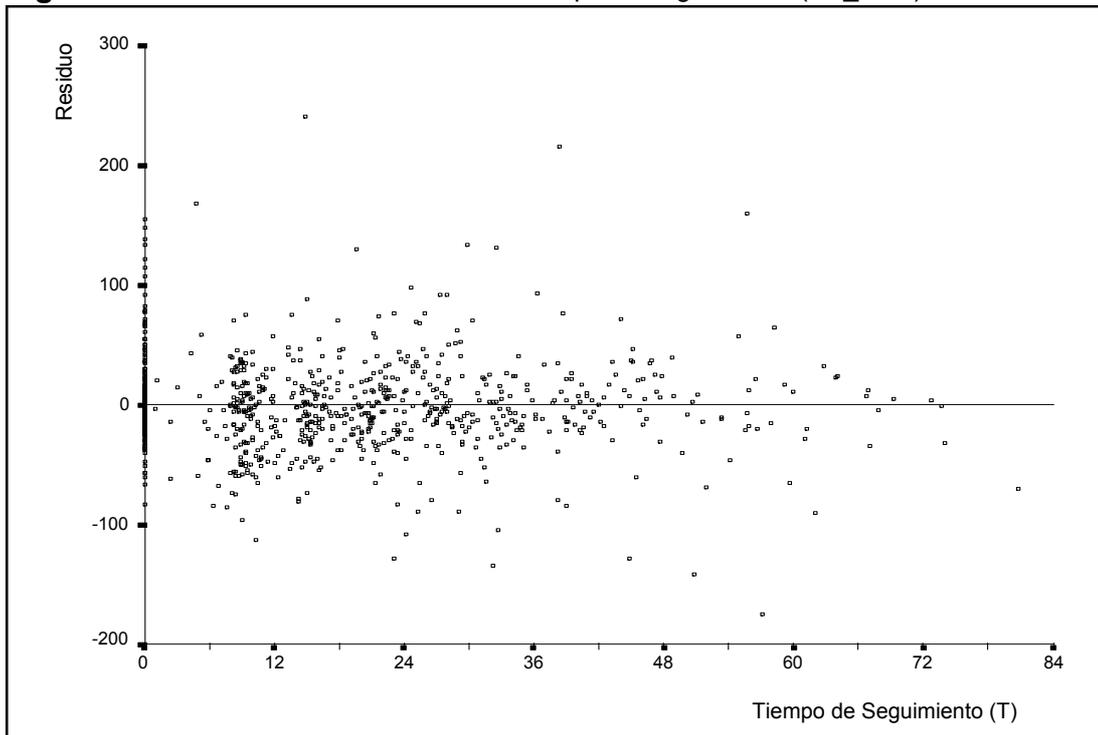


Figura 87. Muestra C: Residuos frente al tiempo de seguimiento (MJ_P2.9).



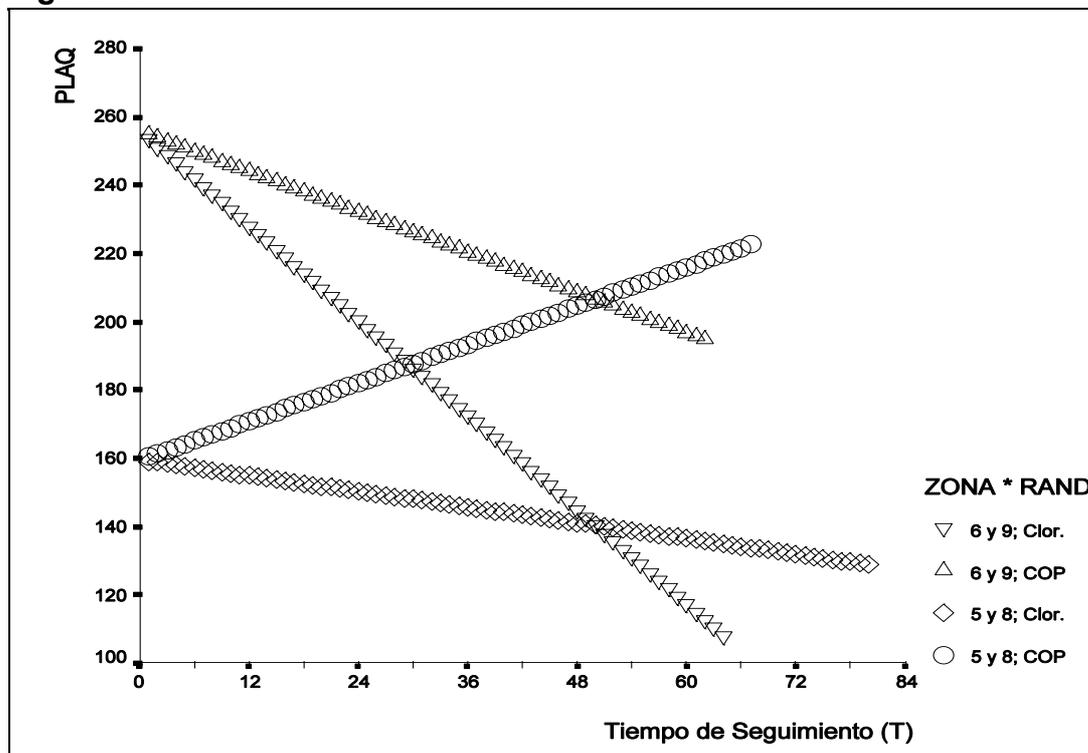
3. Modelo resumen de la evolución de PLAQ.

La **Tabla 88** recoge las estimaciones del modelo resumen de la evolución de PLAQ en el estadio B. El modelo incluye el factor ZONA con sólo dos clases -zona cinco y ocho; zona seis y nueve-, y el efecto del tratamiento (RAND) sobre la pendiente de evolución.

Tabla 88. Muestra C: Efectos fijos del modelo final para la evolución de PLAQ (Estadio B).

Parámetro		Estimación	Error Std	Intervalo de Confianza (95%)		T para H ₀ : Parámetro=0	
							Prob> T
INTERCEPT		255'8412	5'6207	244'8088	266'8736	45'52	0'0000
ZONA	5 y 8	-96'3429	7'6758	-111'409	-81'2767	-12'55	0'0000
	6 y 9	0'0000	'	'	'	'	'
T		-2'3100	0'3348	-2'9671	-1'6529	-6'90	0'0000
T*ZONA	5 y 8	1'9269	0'4131	1'1162	2'7377	4'67	0'0000
	6 y 9	0'0000	'	'	'	'	'
T*RAND	COP	1'3253	0'3778	0'5838	2'0669	3'51	0'0005
	Clor.	0'0000	'	'	'	'	'

Figura 88. Muestra C: Resumen de la evolución media de PLAQ en estadio B.



Basándonos en dichas estimaciones, construimos la **Figura 88**, que representa la evolución de la media de PLAQ en la muestra de contraste. En la representación destaca el mejor comportamiento del recuento plaquetario entre los pacientes que fueron tratados con COP.

La pendiente de evolución del recuento de plaquetas en los pacientes del estadio B localizados en zona seis y nueve tratados con COP no es diferente a la que presentan los pacientes del estadio A -tratados mediante abstención o clorambucil- localizados en zona nueve. Sin embargo, esta afirmación precisa un contraste riguroso, que compare las pendientes de evolución en los diferentes estadios pronóstico.

Capítulo 9.

Discusión y Conclusiones.

Nuestro estudio se proponía alcanzar dos objetivos fundamentales. En primer lugar, nos interesaba estudiar las características de los pacientes al comienzo del seguimiento -balance inicial-, analizando sus distribuciones y buscando relaciones entre ellas. En segundo lugar, pretendíamos encontrar diferentes patrones de evolución -pendientes de evolución de la respuesta en el tiempo- del número de linfocitos (LOGNLYMP), la concentración de hemoglobina en sangre (HB) y el número de plaquetas (PLAQ). La discusión se estructura en torno a dichos objetivos, incluyendo algunas hipótesis para continuar la investigación sobre la evolución y supervivencia de los pacientes de LLC.

I. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES EN EL BALANCE INICIAL.

La descripción de las características de los pacientes al comienzo de su proceso de LLC nos ha permitido poner de manifiesto algunas cuestiones de interés. La mayor parte de los enfermos (69'2%) presentan menos de tres áreas afectadas, y, dicha afectación, cuando se produce, implica la existencia de adenomegalias en alguna de las tres localizaciones consideradas -cervical, axilar e inguinal-. Si se presentan afectadas cuatro áreas, lo más frecuente es que se añada esplenomegalia a la afectación ganglionar antes mencionada. Por otra parte, la distribución de la concentración de hemoglobina (HB) permite identificar pacientes con valores por debajo del límite inferior del intervalo de referencia considerado clínicamente "normal" para cada sexo. Además, el recuento de plaquetas en los hombres es inferior al de las mujeres. Sin

embargo, lo más interesante es la observación de importantes y complicadas asociaciones del número de linfocitos (NLYMP), plaquetas (PLAQ) y concentración de hemoglobina (HB) con el sexo, la edad, el número de áreas afectadas (NROAREAS) y el estadio pronóstico (STADEN).

A. Distribución de NLYMP y Tipos de Médula Ósea.

En el estadio C se clasifica a los pacientes con concentración de hemoglobina y/o recuento de plaquetas por debajo del límite 100 (g/l o plaquetas $\times 10^9$ /l respectivamente). Las medias de ambas variables en este estadio son muy bajas, pero predomina el grupo de individuos con valores de HB y PLAQ simultáneamente por debajo del límite. La distribución del número de linfocitos en el estadio C pone de manifiesto la existencia de tres grupos de pacientes: los que presentan niveles de linfocitos menores de 40, en el intervalo [40-80] e iguales o mayores de 80×10^9 /litro. Tan sólo el 8% presentan valores en el intervalo [40-80], mientras que los dos grupos más extremos se reparten, a partes aproximadamente iguales, el resto de los pacientes. El hecho de observar esta distribución tan interesante, unido a que un importante porcentaje (entre el 17 y el 29%) de los clasificados en el estadio C tengan menos de tres áreas afectadas (NROAREAS <3), hace pensar en la hipótesis de la existencia de dos maneras de ser clasificado en el estadio C. Por un lado, haber llegado a un estado de afectación de la médula ósea grande debido a la proliferación de células leucémicas (CL) -grupo de individuos con 80×10^9 o más linfocitos/litro-. Por el otro, tener una médula con tamaño, funcionalidad o

capacidad reactiva tan disminuidas que una proliferación de CL mucho menor, conduce a una afectación medular similar. Los pacientes con niveles de linfocitos altos han recibido considerable atención por parte de los investigadores, pues tradicionalmente se ha considerado que los valores bajos de concentración de hemoglobina o recuento de plaquetas se relacionan con la agresividad o presión de la proliferación de células leucémicas (“Tumor Burden”) sobre la médula ósea. Sin embargo, casi nada se ha escrito respecto al segundo grupo, que sugiere una asociación de los valores disminuidos de concentraciones de HB y número de plaquetas (PLAQ) con las características de la médula ósea del organismo huésped, o con la relación huésped-proliferación tumoral (Molica et al. 1985).

Todos los individuos del estadio B tienen, por definición, tres o más áreas afectadas ($NROAREAS \geq 3$), mientras que los pacientes clasificados en el estadio A tienen menos de 3 ($NROAREAS < 3$) y una distribución del número de linfocitos muy asimétrica, debido a que la mayoría presentan niveles por debajo de 40×10^9 linfocitos / litro. También existen diferencias por estadio -o número de áreas NROAREAS- en la distribución de la concentración de hemoglobina o del recuento plaquetario. Según el estudio realizado, el punto de corte o frontera escogido ($NROAREAS < 3$) por la clasificación pronóstico de Binet et al. (1981) está fuertemente relacionado con el número de linfocitos, más que con la concentración de hemoglobina ($NROAREAS < 2$), o el número de plaquetas ($NROAREAS < 4$).

B. La Relación entre LOGNLYMP, HB y PLAQ.

El diagrama de dispersión de LOGNLYMP frente a HB y frente a PLAQ permite observar la distribución bimodal del número de linfocitos en el estadio C de la clasificación de Binet et al. (1981), así como la relación del número de linfocitos con hemoglobina y recuento de plaquetas.

Los diagramas de dispersión de la concentración de hemoglobina (HB) frente al número de plaquetas (PLAQ) muestran asociación entre ambas variables. Los valores bajos de concentración de hemoglobina (≤ 130) se asocian con niveles bajos de recuento plaquetario (≤ 150). Sin embargo, los valores bajos de plaquetas no siempre se asocian con concentraciones de hemoglobina (HB) disminuida. Aunque esta situación sólo es evidente entre los hombres, sugiere la hipótesis de que lo más frecuente es un descenso adaptativo del nivel de plaquetas, para mantener la concentración de hemoglobina. Cuando este mecanismo claudica, se produciría la disminución de los niveles de HB.

Para estudiar la relación entre LOGNLYMP, HB y PLAQ ajustada por el sexo, la edad, el número de áreas afectadas (NROAREAS), construimos modelos MANOVA. Los resultados de estos análisis nos han llevado a definir una categorización del número de áreas afectadas (NROAREAS) con significado sobre las tres variables respuesta objetivo de nuestro estudio -LOGNLYMP, HB y PLAQ-. El análisis de las correlaciones parciales entre las respuestas permite poner de manifiesto que la asociación entre la

concentración de hemoglobina y el recuento de plaquetas no está explicada por la edad, el sexo, el número de áreas afectadas o el nivel de linfocitos (I_NLYMP) -modelo MANOVA2-. Su independencia respecto al nivel de linfocitos plantea la posibilidad de que dicha asociación esté recogiendo información sobre la médula ósea del paciente, avalando la hipótesis de la existencia de diferentes tipos de médula, con distinto tamaño, funcionalidad o capacidad reactiva ante la proliferación de células leucémicas. El estudio de Najean y Deschrywer (1986) avala esta hipótesis. Dichos autores describen diferentes mecanismos de producción de anemia y trombopenia. Cuando coexisten anemia y trombopenia, lo más frecuente es la presencia de dificultades en la producción de células (hematopoyesis). Sin embargo, si sólo se presenta anemia, o sólo plaquetopenia, lo más frecuente es que estén generadas por hiperdestrucción celular.

La biopsia o la punción de la médula permiten medir la infiltración linfocitaria o los patrones de dicha infiltración, aportando poca información en relación con el tamaño, la funcionalidad o la capacidad adaptativa ante la proliferación de células leucémicas. En nuestra opinión, no existen en la actualidad mejores indicadores de las características de la médula que los propios valores de concentración de hemoglobina y recuento de plaquetas. Dichos valores recogen información sobre la funcionalidad medular independientemente de que la función esté afectada por el incremento de células leucémicas -linfocitosis sanguínea- o no.

C. El papel del Número de Áreas Afectadas (NROAREAS).

Binet et al. (1981) sólo consideran la concentración de hemoglobina (HB) y/o el recuento plaquetario (PLAQ) para clasificar a los pacientes en el estadio pronóstico C. En el fondo, este criterio reconoce que es indiferente el mecanismo por el cual se llega a presentar una concentración de HB o recuento plaquetario tan disminuidos -médula incompetente, número elevado de CL, la relación entre ambos, u otras causas-, recogiendo, sin mencionarlo expresamente, parte de la asociación entre la concentración de hemoglobina y el número de plaquetas. De hecho, cuando excluimos del análisis a los pacientes clasificados en el estadio C, la correlación entre la concentración de hemoglobina y el número de plaquetas deja de ser significativamente diferente de cero. Sin embargo, en la muestra de exploración se detecta asociación entre los niveles iniciales I_HB e I_PLAQ, que es muy evidente en los hombres. Además, en la muestra de contraste la correlación HB-PLAQ presenta un valor muy extremo, en el límite de la significación. En consecuencia, existen indicios para pensar que la consideración del estadio C no agota la información que recoge la asociación entre la concentración de hemoglobina y el número de plaquetas (Sanz 1989).

La clasificación de Binet et al. (1981) utiliza el número de áreas afectadas (NROAREAS) para distinguir entre los pacientes del estadio B -con tres o más áreas afectadas- y los del A -con menos de tres áreas afectadas-. Por esta razón, estudiamos minuciosamente la relación del factor NROAREAS con las variables respuesta LOGNLYMP, HB y PLAQ medidas en el balance

inicial. Los resultados de los diferentes modelos MANOVA y ANOVA nos permiten afirmar que NROAREAS recoge información sobre las tres respuestas, siendo necesario considerarla en la explicación de la distribución conjunta cuando no incluimos en los modelos ninguno de los factores indicadores de agresividad (I_NLYMP), o tipo de médula (I_HB y/o I_PLAQ). Al considerar estos últimos en la explicación de las respuestas, el factor NROAREAS añade algo de información para explicar LOGNLYMP, es decir, la agresividad de la enfermedad, pero se puede prescindir de él en la explicación de la concentración de hemoglobina (HB) y del recuento de plaquetas (PLAQ).

Los modelos logísticos para estudiar la relación entre los factores sexo, edad y NROAREAS con los niveles iniciales de agresividad (I_NLYMP) o de tipo de médula (I_HB e I_PLAQ) confirman la relación entre estos últimos y el número de áreas afectadas. La presentación de tres o más áreas afectadas se asocia con niveles clínicamente “anormales” de concentración de hemoglobina (I_HB), un recuento de plaquetas (I_PLAQ) inferior a 200×10^9 /litro y un número de linfocitos (I_NLYMP) superior a 40×10^9 /litro.

La clasificación de los pacientes con tres o más áreas afectadas en el estadio B selecciona los enfermos que han llegado a tener cierta afectación de la médula ósea (niveles bajos de HB o/y PLAQ), como consecuencia de la proliferación de células leucémicas (niveles altos de linfocitos). Sin embargo, un 12% de los pacientes no incluidos en el estadio C ni en el B presentan niveles “anormales” de concentración de hemoglobina. Esta heterogeneidad en

el grupo A en relación con la concentración de hemoglobina concuerda con el concepto de LLC indolente “smoldering CLL”, caracterizada de forma fundamental por la presentación de valores iniciales de concentración de hemoglobina superiores a 130 g/litro (Montserrat et al. 1988) o 120 g/litro (Chevret 1989; FCGCLL 1990b), entre los pacientes del estadio A. La diferencia de criterio, en los autores antes mencionados, puede ser debida a la diferencia en la concentración de hemoglobina según el sexo.

D. La definición del factor ZONA.

La definición de ZONA se realizó siguiendo principalmente criterios clínicos, a partir de los factores indicadores de la concentración de hemoglobina (I_HB) y del número de plaquetas (I_PLAQ) al comienzo del seguimiento.

Al considerar la explicación de la concentración de hemoglobina (HB), tanto el indicador de los niveles iniciales I_HB como su interacción con el sexo (I_HB*sexo) eran imprescindibles. Esta interacción es muy importante debido a que recoge información sobre la conocida diferencia en HB entre los hombres y las mujeres en situación clínica “normal”, así como de la tendencia que tiene dicha diferencia a disminuir, cuando consideramos intervalos de concentración de hemoglobina por debajo de 120 g/litro. Sin embargo, los valores en el intervalo [120-130[, considerados “normales” en las mujeres, son clínicamente bajos y “anormales” en la población de hombres. Esta situación provoca una pérdida en el interés clínico del factor I_HB. Por esta razón, pensamos en

considerar un indicador de los niveles de hemoglobina (I_HB) de forma que tuviera en cuenta el sexo, señalando a los hombres y mujeres con concentraciones iniciales por debajo del límite inferior del intervalo de referencia correspondiente a su sexo. El comportamiento de ambos factores en la explicación de HB resultó bastante similar, a pesar de que el último, como es lógico, explica menos variabilidad (un 8% menos).

El límite inferior del intervalo de referencia considerado clínicamente “normal” para el recuento de plaquetas es de 150×10^9 /litro. Sin embargo, otros autores sitúan este límite algo más alto, en 190×10^9 plaquetas /litro (Orland y Saltman 1986). Basándonos en el análisis exploratorio nosotros diferenciamos dos niveles de plaquetas (I_PLAQ): menor o igual y mayor de 200×10^9 /litro.

Nuestro objetivo fundamental es el estudio de la evolución de las respuestas a partir de las características de los pacientes al comienzo del seguimiento. Teniendo en cuenta que, la asociación entre las variables podría estar relacionada con las características de la médula, e influir sobre la evolución de las respuestas, construimos el factor ZONA partiendo de los valores iniciales de hemoglobina I_HB -”anormal” o “normal”- y recuento de plaquetas I_PLAQ. ZONA recoge la distribución conjunta de los pacientes según ambos indicadores.

Las cuatro zonas identificadas por el factor en los estadios pronóstico A y B son de indudable interés clínico. En la zona nueve se encuentran los pacientes con niveles iniciales de concentración de hemoglobina y recuento de plaquetas compatibles con la “normalidad”, mientras que en la zona cinco, tanto

HB como PLAQ adquieren valores clínicamente “anormales” -por debajo del límite inferior del intervalo de referencia considerado “normal” en clínica-. En zona seis, sólo el nivel de hemoglobina es “anormal”, mientras que en la zona ocho, sólo el nivel de plaquetas está por debajo del límite inferior del intervalo de referencia considerado clínicamente “normal”.

Si aceptamos la existencia de un mecanismo adaptativo en la médula ósea para mantener los valores de concentración de hemoglobina a expensas de disminuir el nivel de plaquetas, los individuos en zona ocho se corresponden con pacientes que están logrando adaptarse, mientras que los individuos en la zona seis no lo están consiguiendo.

II. PATRONES DE EVOLUCIÓN DE LOGNLYMP, HB Y PLAQ.

El análisis de la evolución parte de la hipótesis de que las características de los pacientes en el balance inicial: sexo, edad, número de áreas afectadas, niveles de agresividad (I_NLYMP), tipo de médula ósea (ZONA) y/o el tratamiento administrado (RAND) son capaces de identificar grupos de pacientes con distinta pendiente de evolución del logaritmo del número de linfocitos (LOGNLYMP), la concentración de hemoglobina (HB) o el recuento plaquetario (PLAQ).

Los métodos seleccionados para el análisis de evolución parten de una suposición fuerte: la evolución intraindividual de la variable respuesta -LOGNLYMP, HB o PLAQ- se ajusta a un modelo lineal. Comprobamos esta suposición, realizando diagramas de dispersión individuales de cada variable respuesta frente al tiempo de seguimiento. Los diagramas permitían aceptar la suposición en la mayor parte de los casos. Sin embargo, la primera observación de LOGNLYMP realizada en el balance inicial de los individuos tratados -fuera cual fuera el régimen quimioterápico- era muy alta y estaba muy alejada del resto de observaciones donde el modelo lineal resultaba aceptable de nuevo. Por esta razón, consideramos la primera observación para la definición del nivel de agresividad (I_NLYMP), pero la excluimos en el ajuste de los modelos. Resulta evidente la existencia de un descenso en el nivel de linfocitos de las personas tratadas poco tiempo después de comenzar el tratamiento, que nuestros modelos estimarán en el origen de la escala temporal.

A. Evolución en el estadio pronóstico A.

El análisis de la evolución de los pacientes en el estadio pronóstico A ha puesto de manifiesto la existencia de diferentes patrones de evolución de la concentración de HB, del número de linfocitos (LOGNLYMP) y el recuento de plaquetas (PLAQ).

1. Evolución del logaritmo del número de linfocitos.

En los pacientes con **recuento inicial menor de 40×10^9 linfocitos/litro** tratados con clorambucil, **LOGNLYMP sufre un descenso después de comenzar el tratamiento y una lenta recuperación posterior.** La pendiente de recuperación de este grupo de pacientes es significativamente diferente de la evolución ascendente de LOGNLYMP en los enfermos que, con el mismo nivel inicial de linfocitos (40×10^9 /litro), permanecen en abstención terapéutica: los pacientes tratados presentan una pendiente con un gradiente menor. En el estadio A la mayoría de los pacientes presentan un número de linfocitos inicial menor de 40, existiendo un número muy limitado de individuos con valores de NLYMP superiores a 80, lo que no nos permite sacar conclusiones con los resultados de dicho grupo de pacientes. Además, el tratamiento aumenta la variabilidad de LOGNLYMP y de las pendientes y términos independientes de los modelos intraindividuales, invirtiendo el signo de la covarianza entre los dos últimos. **La covarianza negativa en los enfermos tratados implica una pendiente de recuperación de LOGNLYMP relativamente más rápida a medida que el descenso de linfocitos tras iniciar el tratamiento alcanza niveles más bajos.**

2. Evolución de la concentración de hemoglobina.

El análisis de la evolución de HB en el estadio A pone de manifiesto la **existencia de patrones de evolución diferente según los niveles iniciales de concentración de hemoglobina** (“normal” o “anormal”) **y el tratamiento administrado (RAND)**. El tratamiento aumenta la variabilidad de HB, pero el resultado más interesante de este análisis es la constatación de que **la concentración de hemoglobina evoluciona peor en los sujetos tratados con clorambucil y localizados en las zonas ocho ó nueve** -nivel inicial “normal” de hemoglobina-. Este descubrimiento resulta compatible con la disminución de la supervivencia de los pacientes tratados a pesar de que se consiguen cierto número de remisiones, es decir, el efecto paradójico del clorambucil en el estadio A descrito por el FCGCLL (1988a). **Sin embargo, la evolución de HB es mejor en los pacientes tratados, cuando están localizados en las zonas cinco ó seis** -nivel inicial “anormal” de hemoglobina-. Esto implicaría un **efecto beneficioso del tratamiento con clorambucil de los pacientes en A y zonas cinco ó seis, que retrasaría su evolución hacia el estadio pronóstico C**, dependiendo dicho cambio de estadio, de la evolución del recuento plaquetario. En la actualidad, no se conocen las causas de este comportamiento paradójico del clorambucil, que parece provocar una mielosupresión selectiva de los pacientes con médula hipotéticamente más capaz (zona 9) o con capacidad ligeramente disminuida (zona 8).

3. Evolución del número de plaquetas.

El análisis de evolución del número de plaquetas (PLAQ) nos ha permitido observar una variabilidad de PLAQ mayor entre los pacientes tratados con clorambucil y algunas diferencias en los parámetros del modelo de covarianza en la muestra de exploración (E) y contraste (C). A pesar de dichas diferencias, las estimaciones de los efectos fijos son similares en ambas muestras, permitiéndonos **definir diferentes patrones de evolución del recuento plaquetario según los niveles iniciales de plaquetas (≤ 200 , > 200)**. El recuento plaquetario se mantiene estable, o con una ligera pendiente ascendente en los pacientes localizados en la zona ocho o cinco (nivel inicial de plaquetas ≤ 200) -en zona cinco la pendiente es negativa en la muestra de exploración-. Sin embargo, el número de plaquetas desciende en los pacientes localizados en la zona nueve o seis (nivel inicial de plaquetas > 200). **El efecto del tratamiento con clorambucil se materializa en un descenso del número de plaquetas poco después de comenzar el tratamiento, que, además, no es capaz de cambiar las pendientes de evolución de dicha variable.**

El descenso de PLAQ en ambas muestras (E o C) es mucho más pronunciado entre los pacientes localizados en la zona seis; aunque no es estadísticamente significativo en la muestra de contraste, esto pudiera tener algún significado biológico o clínico de interés. De hecho, en el apartado anterior, se señala que el tratamiento con clorambucil retrasa el cambio hacia el estadio C provocado por la disminución de HB, sólo en las zonas cinco o seis. Sin embargo, dado que el clorambucil no aumenta el nivel de plaquetas, los pacientes localizados en la zona seis pueden cambiar antes al estadio pronóstico C.

B. Evolución en el estadio pronóstico B.

1. Evolución del logaritmo del número de linfocitos.

No hemos encontrado patrones diferentes de evolución del logaritmo del número de linfocitos en el estadio B, considerando los factores iniciales ensayados. Sin embargo, **el tiempo tiene un efecto positivo sobre la evolución de esta variable, que parece aumentar más rápidamente que en el estadio A**, independientemente del tratamiento administrado (Clorambucil o COP). La clasificación pronóstico (Binet et al. 1981) según el número de áreas afectadas (NROAREAS), podría estar recogiendo información sobre la evolución del número de linfocitos. La enfermedad resulta ser más agresiva, con una proliferación mayor de células leucémicas, en los pacientes del estadio B, todos los cuales presentan más de tres áreas afectadas. Es necesario un estudio y análisis posterior más detallado comparando la evolución de los linfocitos en los diferentes estadios A y B.

2. Evolución de la concentración de hemoglobina.

Tampoco encontramos patrones de evolución diferentes para la concentración de hemoglobina (HB) de los pacientes en el estadio B. El tiempo tiene un efecto negativo sobre dicha concentración. Además, aunque la comparación debe realizarse de forma más rigurosa, HB disminuye con una pendiente que parece no ser diferente de la observada en los pacientes localizados en zona nueve, clasificados en el estadio A y tratados con clorambucil. Esto podría significar que, presentar un número de áreas

afectadas (NROAREAS) superior a tres, no aporta información adicional sobre la evolución de la concentración de hemoglobina en dichos pacientes. En los pacientes con más de tres áreas afectadas, el número de linfocitos es más elevado y la agresividad de la enfermedad se incrementa como acabamos de comentar. Posiblemente, con una agresividad tan importante, la capacidad reactiva, funcionalidad o tamaño de la médula ósea no tengan demasiada importancia, por lo cual no detectamos diferentes patrones de evolución según la localización por zona. Sin embargo, aunque la pendiente sea uniforme en todas las zonas, debemos tener en cuenta que los individuos en la 5 ó 6 cambian al estadio pronóstico C mucho antes, al estar situados más cerca del límite para entrar en dicho estadio. La hemoglobina evoluciona de forma uniforme en los pacientes del estadio B independientemente de la ZONA o del tratamiento administrado (Clorambucil o COP). **El tratamiento en este caso no retrasa el cambio hacia el estadio pronóstico C.**

3. Evolución del recuento de plaquetas.

El tratamiento y la localización según zona tienen efecto sobre la pendiente de evolución del recuento plaquetario en el estadio B. En primer lugar, el número de plaquetas de los pacientes tratados con clorambucil localizados en las zonas seis y nueve -recuentos iniciales superiores a 200×10^9 plaquetas/litro- desciende a lo largo del tiempo, mientras en las zonas cinco y ocho el descenso es mucho más lento. En segundo lugar, el tratamiento con COP desacelera el descenso del nivel de plaquetas en las zonas seis y nueve, llegando a conseguir una evolución positiva en los individuos localizados en

zonas cinco u ocho. Esta evolución positiva puede retrasar el cambio hacia el estadio pronóstico C provocado por la disminución de plaquetas, aunque no se afectarían los cambios de estadio producidos por la disminución en la concentración de hemoglobina.

C. Patrones de evolución y tratamiento.

Desde el punto de vista de la evolución de las variables respuesta estudiadas -LOGNLYMP, HB y PLAQ-, no existen razones para tratar con quimioterapia -clorambucil o COP- a los pacientes localizados en la zona nueve. Sin embargo, los pacientes en dicha zona que presentan tres o más áreas afectadas (estadio B) pueden precisar la administración de algún tratamiento paliativo con el fin de disminuir el tamaño o el número de áreas.

Los pacientes localizados en zona ocho presentan una mejor evolución del número de plaquetas cuando son tratados con COP en el estadio B ($NROAREAS \geq 3$). En el estadio A la evolución de PLAQ no es diferente según el tratamiento -abstención o clorambucil-. Sin embargo, la concentración de hemoglobina evoluciona peor con el clorambucil y lo mejor es la abstención terapéutica, coincidiendo con el criterio del FCGCLL. En el estadio B y zona ocho, el comportamiento de las plaquetas con COP parece ser mejor, pero sería preciso comparar este tratamiento con otras medidas paliativas de soporte, destinadas a disminuir el número de áreas afectadas o incluso la abstención terapéutica.

Las recomendaciones terapéuticas en zona seis no son fáciles de hacer, pues existen muy pocos individuos en dicha zona. Por una parte, los pacientes del estadio A presentan pendientes de evolución de plaquetas muy negativas tanto en la muestra de exploración como en la de contraste, aunque en esta última la pendiente no es diferente de la correspondiente a los pacientes localizados en zona nueve. Sin embargo, en el estadio B, la evolución de PLAQ en los tratados con COP es mejor. Por otra parte, en el estadio A los pacientes tratados con clorambucil presentan una buena evolución de HB. Por lo tanto, parece que lo mejor sería la administración de tratamiento quimioterápico, siendo necesaria la comparación del clorambucil y COP en esta zona.

En la zona cinco, el tratamiento con clorambucil tiene un efecto positivo sobre la evolución de la concentración de hemoglobina en el estadio A y el tratamiento con COP produce un efecto positivo en la evolución de las plaquetas en el estadio B. Los resultados de este estudio indican que el tratamiento puede resultar beneficioso para estos pacientes, siendo necesario contrastar el efecto del clorambucil frente al COP en el estadio A.

III. CONCLUSIONES.

Resumimos a continuación las conclusiones que consideramos más importantes en relación con los objetivos planteados al inicio del estudio.

A. Conclusiones del estudio del Balance Inicial.

1. **La distribución del número de linfocitos en el estadio pronóstico C (Binet et al. 1981) permite distinguir tres grupos de pacientes:** los que presentan menos de 40, en el intervalo [40-80[y superiores o iguales a 80×10^9 linfocitos / litro. Sólo un 8% de los pacientes se encuentran en el grupo intermedio, mientras los dos grupos extremos se reparten aproximadamente por igual el resto de los enfermos.
2. **El recuento de plaquetas en los hombres es menor que el de las mujeres,** precisando un estudio de las causas que producen esta diferencia.
3. **Existe asociación entre la concentración de hemoglobina y el número de plaquetas de los pacientes diagnosticados de LLC.** Dicha asociación no está explicada por el sexo, la edad, el número de áreas afectadas (NROAREAS) o el nivel del número de linfocitos. La consideración del estadio pronóstico C no agota la información que sobre la evolución proporcionan la relación entre ambas variables.

4. **La presentación de tres o más áreas afectadas** -definidas con los mismos criterios de la clasificación de Binet et al. (1981)- **se relaciona con niveles clínicamente “anormales” de hemoglobina** -menores del límite inferior del intervalo de referencia considerado normal según el sexo- **y plaquetas menores o iguales a 200×10^9 /litro, pero con niveles altos del recuento de linfocitos ($\geq 40 \times 10^9$ /litro).** Su utilización para clasificar a los pacientes del estadio pronóstico B, **selecciona individuos con cierto grado de afectación medular** -niveles bajos de concentración de hemoglobina o número de plaquetas-, **debido a la proliferación de células leucémicas.** Sin embargo, aproximadamente un 12% de los pacientes no incluidos en C ni en B presentan niveles de hemoglobina “anormales” con menos de tres áreas afectadas.

B. Conclusiones del estudio de la evolución en el estadio A.

1. El número de linfocitos tiende a aumentar en el tiempo, cuando los pacientes presentan un recuento linfocitario inicial por debajo de 40×10^9 /litro y permanecen en abstención terapéutica -grupo de individuos no tratados-. Con similar linfocitosis inicial, **el efecto del tratamiento con clorambucil se materializa en un descenso del nivel de linfocitos poco después de iniciar su administración, con un lento aumento posterior.** El aumento es relativamente más rápido, cuanto más bajo haya sido el nivel de linfocitos alcanzado

tras el descenso inicial. Además, la evolución del número de linfocitos está frenada por el tratamiento, resultando la pendiente de LOGNLYMP en los pacientes tratados presenta un gradiente positivo significativamente menor.

2. **El tratamiento con clorambucil tiene un efecto paradójico sobre la evolución de la concentración de hemoglobina.** Dicha concentración tiende a aumentar en el tiempo, entre los pacientes con niveles iniciales de HB por debajo del límite inferior del intervalo de referencia considerado clínicamente “normal” para cada sexo - ≤ 130 en hombres y ≤ 120 en mujeres-. Sin embargo, en los pacientes con niveles iniciales compatibles con la “normalidad” clínica, el tratamiento con clorambucil hace que disminuya la concentración de HB en el tiempo.

3. **La evolución del recuento de plaquetas es diferente según su nivel inicial.** Cuando el recuento inicial está en valores compatibles con la “normalidad” clínica (≥ 200), el número de plaquetas disminuye en el tiempo. Sin embargo, cuando el nivel inicial es igual o menor de 200×10^9 /litro, el recuento tiende hacia la estabilidad temporal. El efecto del **tratamiento con clorambucil se reduce a un descenso en el número de plaquetas poco después de comenzar su administración**, sin alterar la evolución temporal antes descrita.

4. **El tratamiento con clorambucil produce mejores resultados que la abstención en los pacientes clasificados en el estadio A y con niveles de hemoglobina bajos, o clínicamente “anormales” para cada sexo** (≤ 130 en los hombres y ≤ 120 en las mujeres). El clorambucil consigue frenar la caída de hemoglobina, retrasando el cambio hacia el estadio pronóstico C (en zona cinco). Además, no se encuentran razones para aplazar el inicio del tratamiento. Sin embargo, el tratamiento con clorambucil de los pacientes que presentan valores iniciales de hemoglobina compatibles con la “normalidad” clínica no debe realizarse.

C. Conclusiones del estudio de la evolución en el estadio B.

1. **El patrón de evolución del número de linfocitos es único**, no pudiendo distinguir diferentes pendientes de evolución por ninguna de las características iniciales consideradas. **Los linfocitos disminuyen poco después de comenzar el tratamiento con clorambucil o COP**, produciéndose después un aumento del número de linfocitos.
2. Ninguna de las características iniciales de los pacientes ha permitido identificar patrones diferentes de evolución de hemoglobina. **El patrón de evolución de la concentración de hemoglobina es único: la concentración disminuye en el tiempo.**

3. **La evolución del recuento de plaquetas es diferente según su nivel inicial y el tratamiento administrado.** En los pacientes con recuento inicial menor o igual a 200×10^9 /litro tratados con clorambucil se observa un descenso del número de plaquetas. Los pacientes con niveles iniciales por encima de dicho valor, sufren una disminución del número de plaquetas más rápida. **El tratamiento con COP consigue que dicha disminución sea mucho más suave cuando los niveles iniciales estaban por encima de 200, e incluso aumenta el recuento de plaquetas** de los pacientes con nivel inicial clínicamente “anormal” ($\leq 200 \times 10^9$ plaquetas/litro).

D. Cuestiones abiertas.

1. ¿Cuál es la causa del comportamiento paradójico del clorambucil en el estadio A? ¿Por qué produce una disminución de la concentración de hemoglobina entre los pacientes con niveles iniciales compatibles con la “normalidad” clínica y un aumento en los demás?
2. ¿Cuál es la razón de que el tratamiento con COP tenga un comportamiento mejor que el clorambucil con el recuento de plaquetas en el estadio B?
3. ¿Existe relación entre los patrones de evolución de la concentración de hemoglobina, el número de plaquetas o linfocitos con la supervivencia de los pacientes?

4. ¿Cómo evolucionan conjuntamente las tres variables antes mencionadas? ¿Su evolución conjunta afecta la supervivencia de los pacientes?

RESUMEN

La historia natural de la leucemia linfocítica crónica es poco conocida. Por otra parte se han descrito resultados paradójicos en los enfermos tratados con clorambucil.

En este trabajo se estudia la evolución de la concentración de hemoglobina, el recuento plaquetario y el número de linfocitos en enfermos clasificados en los estadios A y B de Binet (1981), teniendo en cuenta los valores iniciales de estas variables, la edad, el sexo, el número de áreas afectadas y el tratamiento aleatoriamente asignado. Los datos utilizados corresponden a 968 pacientes incluidos en el ensayo LLC-80 y seguidos durante un máximo de siete años. En el análisis se utilizan modelos jerárquicos apropiados para datos longitudinales.

Los resultados confirman un aumento del número de linfocitos, tras una caída inicial en los pacientes tratados; la concentración de hemoglobina disminuye en el tiempo, excepto en un grupo de pacientes del estadio A tratados con clorambucil; se observan diferencias en el recuento plaquetario, relacionadas con los valores iniciales y el tratamiento asignado.

Palabras Clave: Leucemia Linfocítica Crónica, evolución, linfocitos, hemoglobina, plaquetas, datos longitudinales, modelos jerárquicos, efectos aleatorios, clorambucil, COP.

Índice de Tablas.

Tabla 1. Nueva Clasificación FAB de la LLC (Bennett et al. 1989).	24
Tabla 2. Criterios para el Diagnóstico de la LLC.	28
Tabla 3. Clasificación pronóstica de Rai et al. (1975).	35
Tabla 4. Clasificación pronóstica de Binet et al. (1981).	37
Tabla 5. Clasificación pronóstica Internacional de la LLC.	39
Tabla 6. Criterios de Remisión Completa.	48
Tabla 7. Procedimientos Terapéuticos utilizados en el Tratamiento de la LLC.	52
Tabla 8. Posología de los Diferentes Tratamientos.	60
Tabla 9. Pacientes Incluidos según Tratamiento, Edad y Estadio Pronóstico.	60
Tabla 10. Variables Medidas en el Balance Inicial.	64
Tabla 11. Estructura de la Matriz de Datos en el Diseño Transversal.	77
Tabla 12. Estructura de Datos del Diseño Longitudinal Fijo.	79
Tabla 13. Fecha de los Balances Iniciales.	118
Tabla 14. Distribución de frecuencias del número de balances (q_i).	119
Tabla 15. Descripción del Tiempo -días- hasta que se realiza el balance $k:T_k$	120
Tabla 16. Localización Temporal de los Balances de Seguimiento (k).	123
Tabla 17. Descripción del Tiempo -días- transcurrido entre balances consecutivos: $T_{k-1, k}$	124
Tabla 18. Distribución de la Edad en la Muestra de Exploración.	129
Tabla 19. Distribución de la afectación Ganglionar, Esplénica, Hepática y del Número total de Áreas Afectadas (NROAREAS) según Sexo, según Estadio Pronóstico (Binet et al. 1981), y Total en la Muestra de Exploración.	132
Tabla 20. Distribución de NLYMP según Sexo , según Estadio Pronóstico y Total.	138
Tabla 21. Medidas de Localización y Dispersión de NLYMP según el sexo, la edad, el estadio pronóstico y el número de áreas afectadas (NROAREAS).	139
Tabla 22. Distribución de NLYMP condicionada al Estadio (STADEN).	139
Tabla 23. Estimación y Contraste de los Efectos de Edad en LOGNLYMP.	142
Tabla 24. Estimación y Contraste de los efectos de STADEN en LOGNLYMP.	144
Tabla 25. Estimación y Contraste de los efectos de NROAREAS en LOGNLYMP.	145
Tabla 26. Distribución de HB según Sexo, según Estadio Pronóstico y Total.	148
Tabla 27. Medidas de Localización y dispersión de HB según el sexo, la edad, el Estadio Pronóstico y el Número de Áreas afectadas (NROAREAS).	149
Tabla 28. Estimación y Contraste de los Efectos de la Edad en HB ajustados por Sexo.	154
Tabla 29. Estimación y Contraste de los Efectos de STADEN en HB ajustados por Sexo.	155
Tabla 30. Estimación y Contraste de los Efectos de NROAREAS en HB ajustados por Sexo.	157
Tabla 31. Distribución de PLAQ según el Sexo, según el Estadio Pronóstico y Total.	160
Tabla 32. Medidas de Localización y Dispersión de la distribución de PLAQ según el Sexo, la Edad, el Estadio Pronóstico y el Número de Áreas afectadas (NROAREAS).	161
Tabla 33. Estimación y Contraste de los efectos de Edad en PLAQ.	164

Tabla 34. Estimación y Contraste de los efectos del Estadio (STADEN) en PLAQ.	165
Tabla 35. Estimación y Contraste de los efectos de NROAREAS en PLAQ.	167
Tabla 36. Modelo ANOVA1.1: LOGNLYMP en función de Sexo, Edad y NROAREAS.	174
Tabla 37. Modelo ANOVA1.2: HB en función de Sexo, Edad y NROAREAS.	176
Tabla 38. Modelo ANOVA1.3: PLAQ en función de Sexo, Edad y NROAREAS.	179
Tabla 39. Test MANOVA del Efecto GLOBAL sobre LOGNLYMP, HB y PLAQ.	182
Tabla 40. ANOVA2.1: LOGNLYMP en función de Sexo, Edad, NROAREAS e I_NLYMP.	184
Tabla 41. ANOVA2.2: HB en función de Sexo, Edad, NROAREAS e I_NLYMP.	185
Tabla 42. ANOVA2.3: PLAQ en función de Sexo, Edad, NROAREAS e I_NLYMP.	186
Tabla 43. Correlación Total y Parcial entre cada par de Variables Respuesta.	187
Tabla 44. Definición del Factor explicativo ZONA.	191
Tabla 45. ANOVA3.1: LOGNLYMP en función de Sexo, Edad, NROAREAS, I_NLYMP, ZONA.	194
Tabla 46. ANOVA3.2: HB en función de Sexo, Edad, NROAREAS, I_NLYMP y ZONA.	196
Tabla 47. ANOVA3.3: PLAQ en relación con Sexo, Edad, NROAREAS, I_NLYMP y ZONA.	197
Tabla 48. Contribución de NROAREAS a la explicación de las Variables Respuesta.	201
Tabla 49. Contribución de I_NLYMP en la explicación de las Variables Respuesta.	202
Tabla 50. Contribución de I_HB a la explicación de las Variables Respuesta.	203
Tabla 51. Muestra E: Distribución de ZONA condicionada al Estadio pronóstico.	207
Tabla 52. Estadio A: Modelo para la Covarianza de LOGNLYMP.	215
Tabla 53. Estadio A: Selección de factores asociados con la evolución de LOGNLYMP.	217
Tabla 54. Estimación y Contraste de los efectos del modelo para LOGNLYMP (MJ_L1.9).	218
Tabla 55. Estadio A: Modelo para la Covarianza de HB.	223
Tabla 56. Estadio A: Selección de factores asociados con la evolución de HB.	224
Tabla 57. Estimación y Contraste de los efectos del modelo para HB (MJ_H1.10).	225
Tabla 58. Estadio A: Modelo para la Covarianza de PLAQ.	231
Tabla 59. Estadio A: Selección de los factores asociados con la Evolución de PLAQ.	232
Tabla 60. Estimación y Contraste de los efectos del modelo para PLAQ (MJ_P1.12).	233
Tabla 61. Estadio B: Modelo para la Covarianza de LOGNLYMP.	238
Tabla 62. Estadio B: Selección de factores asociados con la evolución de LOGNLYMP.	239
Tabla 63. Estimación y Contraste de los efectos del modelo para LOGNLYMP (MJ_L2.13).	240
Tabla 64. Estadio B: Modelo para la Covarianza de HB.	242
Tabla 65. Estadio B: Selección de factores asociados con la evolución de HB.	243
Tabla 66. Estimación y Contraste de los efectos del modelo para HB (MJ_H2.10).	244
Tabla 67. Modelo para la Covarianza de PLAQ en el Estadio B.	247
Tabla 68. Estadio B: Selección de factores asociados con la evolución de PLAQ.	248
Tabla 69. Estimación y Contraste de los efectos del modelo para PLAQ (MJ_P2.9).	248
Tabla 70. Estadio B: Efectos del Modelo reducido para PLAQ.	251
Tabla 71. Muestra C: Distribución de I_NLYMP condicionada al Estadio.	262

Tabla 72. Muestra C: Distribución de ZONA condicionada al Estadio pronóstico.	266
Tabla 73. Muestra C: Modelo para la Covarianza de LOGNLYMP en el Estadio A.	269
Tabla 74. Muestra C: Estimación y Contraste de los efectos del MJ_L1.9 para LOGNLYMP. . .	271
Tabla 75. Estadio A: Efectos fijos del modelo resumen para la evolución de LOGNLYMP. . . .	274
Tabla 76. Muestra C: Modelo para la Covarianza de HB en el Estadio A.	276
Tabla 77. Muestra C: Estimación y Contraste de Efectos fijos del MJ_H1.10 para HB.	278
Tabla 78. Muestra C: Efectos fijos del modelo resumen de la evolución de HB en estadio A. . .	281
Tabla 79. Muestra C: Modelo para la Covarianza de PLAQ en el Estadio Pronóstico A.	283
Tabla 80. Muestra C: Estimación y Contraste de los efectos fijos del MJ_P1.12 para PLAQ. . .	285
Tabla 81. Muestra C: Efectos fijos del modelo final para la evolución de PLAQ (Estadio A). . .	288
Tabla 82. Muestra C: Modelo para la Covarianza de LOGNLYMP en el estadio B.	290
Tabla 83. Muestra C: Estimación de los efectos del modelo MJ_L2.13 para LOGNLYMP.	290
Tabla 84. Muestra C: Modelo para la Covarianza de HB en el estadio B.	293
Tabla 85. Muestra C: Estimación y Contraste de efectos fijos del MJ_H2.10 para HB.	293
Tabla 86. Muestra C: Modelo para la Covarianza de PLAQ en el estadio B.	296
Tabla 87. Muestra C: Estimación y Contraste de los efectos fijos del MJ_P2.9 para PLAQ. . . .	297
Tabla 88. Muestra C: Efectos fijos del modelo final para la evolución de PLAQ (Estadio B). . .	300

Índice de Figuras.

Figura 1. Inclusión Escalonada de los Pacientes en el Tiempo.	67
Figura 2. La Escala de Seguimiento.	67
Figura 3. Distribución del Tiempo -días- hasta que se realiza el balance k: T_k	121
Figura 4. Distribución del Estadio (STADEN) y del Tratamiento Asignado (RAND).	134
Figura 5. Histograma del Número de Linfocitos en Sangre / litro / 10^9	135
Figura 6. Histograma de LOGNLYMP y Curva Normal con la misma Media y Varianza.	136
Figura 7. Diagrama de Normalidad de la Distribución de LOGNLYMP.	137
Figura 8. Diagrama de cajas de la distribución de NLYMP según el sexo.	141
Figura 9. Diagrama de cajas de la Distribución de NLYMP según la edad.	141
Figura 10. Diagrama de cajas de la distribución de NLYMP según STADEN.	143
Figura 11. Diagrama de cajas de NLYMP según el Número de Áreas (NROAREAS).	145
Figura 12. Histograma de HB y curva Normal con la misma Media y Varianza.	146
Figura 13. Diagrama de Normalidad de la Distribución de HB (gr / litro).	147
Figura 14. Histograma de HB en Hombres y curva Normal con la misma Media y Varianza. . .	151
Figura 15. Histograma de HB en Mujeres y curva Normal con la misma Media y Varianza. . .	151
Figura 16. Diagrama de cajas de HB según el sexo.	152
Figura 17. Diagrama de cajas de HB según la edad.	153
Figura 18. Diagrama de cajas de HB (gr/litro) según el Estadio Pronóstico (STADEN).	155
Figura 19. Diagrama de cajas de HB (gr/litro) según Número de Áreas (NROAREAS).	157
Figura 20. Histograma de PLAQ (10^9 /litro) y curva Normal con la misma Media y Varianza. . .	158
Figura 21. Diagrama de Normalidad de la Distribución de PLAQ (10^9 / litro).	159
Figura 22. Diagrama de cajas de PLAQ (10^9 / litro) según el sexo.	162
Figura 23. Distribución de PLAQ (10^9 / litro) según la Edad.	163
Figura 24. Diagrama de cajas de PLAQ (10^9 /litro) según el Estadio Pronóstico (STADEN). . . .	165
Figura 25. Distribución de PLAQ (10^9 /litro) según Número de Áreas (NROAREAS).	166
Figura 26. Dispersión de HB frente a LOGNLYMP, distinguiendo el Estadio (STADEN).	171
Figura 27. Dispersión de PLAQ y LOGNLYMP, distinguiendo el Estadio (STADEN).	171
Figura 28. Dispersión de HB y PLAQ, distinguiendo el Estadio (STADEN).	172
Figura 29. ANOVA1.1: Normalidad del Residuo (Modelo para LOGNLYMP).	175
Figura 30. ANOVA1.1: Dispersión del Residuo frente a la Predicción de LOGNLYMP.	175
Figura 31. ANOVA1.2: Normalidad del Residuo (Modelo para HB).	177
Figura 32. ANOVA1.2: Dispersión del Residuo frente a la Predicción de HB.	178
Figura 33. ANOVA1.3: Normalidad del Residuo (Modelo para PLAQ).	180
Figura 34. ANOVA1.3: Dispersión del Residuo frente a la Predicción de PLAQ.	180
Figura 35. Dispersión HB-PLAQ en Hombres con NLYMP < 80.	189
Figura 36. Dispersión HB-PLAQ en Mujeres con NLYMP < 80.	189
Figura 37. Dispersión HB-PLAQ en Hombres con NLYMP \geq 80.	190

Figura 38. Dispersión HB-PLAQ en Mujeres con NLYMP \geq 80.	190
Figura 39. Definición Gráfica del factor ZONA para los Hombres.	192
Figura 40. Definición Gráfica del factor ZONA para las Mujeres.	192
Figura 41. ANOVA3.1: Dispersión del Residuo frente a la Predicción de LOGNLYMP.	194
Figura 42. ANOVA3.2: Dispersión del residuo frente a la Predicción de HB.	196
Figura 43. ANOVA3.3: Dispersión del Residuo frente a la Predicción de PLAQ.	197
Figura 44. Asociación entre los factores NROAREAS, I_NLYMP, I_HB e I_PLAQ.	205
Figura 45. Estadio A: Evolución Media de LOGNLYMP (MJ_L1.9).	220
Figura 46. Normalidad del Residuo de MJ_L1.9 para la evolución de LOGNLYMP	221
Figura 47. Dispersión del Residuo frente a la Predicción de LOGNLYMP (MJ_L1.9).	222
Figura 48. Residuo frente al Tiempo de Seguimiento (MJ_L1.9).	222
Figura 49. Estadio A: Evolución Media de HB en las mujeres (MJ_H1.10).	227
Figura 50. Estadio A: Normalidad del Residuo en el Modelo MJ_H1.10.	228
Figura 51. Estadio A: Dispersión del Residuo frente a la Predicción de HB (MJ_H1.10).	229
Figura 52. Estadio A: Residuo frente al Tiempo de Seguimiento (MJ_H1.10).	229
Figura 53. Estadio A: Evolución Media de PLAQ (MJ_P1.12).	234
Figura 54. Normalidad del Residuo del Modelo MJ_P1.12.	235
Figura 55. Residuo frente a la Predicción de PLAQ (MJ_P1.12).	236
Figura 56. Residuo frente al Tiempo de Seguimiento (MJ_P1.12).	236
Figura 57. Normalidad del Residuo (MJ_L2.13) para la Evolución de LOGNLYMP.	240
Figura 58. Dispersión del Residuo frente a la Predicción de LOGNLYMP (MJ_L2.13).	241
Figura 59. Residuos frente al Tiempo de Seguimiento (MJ_L2.13).	241
Figura 60. Normalidad del Residuo en el Modelo MJ_H2.10.	245
Figura 61. Residuo frente a la Predicción de HB (MJ_H2.10).	246
Figura 62. Residuo frente al Tiempo de Seguimiento (MJ_H2.10).	246
Figura 63. Estadio B: Residuo frente a la Predicción de PLAQ (MJ_P2.9).	250
Figura 64. Residuo frente al Tiempo de Seguimiento (MJ_P2.9).	250
Figura 65. Normalidad del Residuo en el Modelo (MJ_P2.9).	251
Figura 66. Estadio B: Evolución Media de PLAQ -tratados con Clorambucil-.	253
Figura 67. Estadio B: Evolución Media de PLAQ -tratados con COP-.	253
Figura 68. Asociación entre los factores NROAREAS, I_NLYMP, I_HB e I_PLAQ (muestra C).	265
Figura 69. Muestra C: Evolución Media de LOGNLYMP en el Estadio A.	271
Figura 70. Muestra C: Residuo frente a la predicción de LOGNLYMP (MJ_L1.9).	272
Figura 71. Muestra C: Residuo frente al tiempo de seguimiento (MJ_L1.9).	272
Figura 72. Muestra C: Resumen de la evolución de la media de LOGNLYMP en estadio A ...	274
Figura 73. Muestra C: Evolución Media de HB en las mujeres del Estadio A.	278
Figura 74. Muestra C: Dispersión del residuo frente a la predicción de HB (MJ_H1.10).	279
Figura 75. Muestra C: Residuo frente al tiempo de seguimiento (MJ_H1.10).	279

Figura 76. Muestra C: Resumen de la evolución media de HB en mujeres del estadio A.	281
Figura 77. Muestra C: Evolución Media de PLAQ en el Estadio A.	285
Figura 78. Muestra C: Residuo frente a la predicción de PLAQ (MJ_P1.12).	286
Figura 79. Muestra C: Residuo frente al tiempo de seguimiento (MJ_P1.12).	286
Figura 80. Muestra C: Resumen de la evolución media de PLAQ en estadio A.	288
Figura 81. Muestra C: Residuo frente a la predicción de LOGNLYMP (MJ_L2.13).	292
Figura 82. Muestra C: Residuo frente al tiempo de seguimiento (MJ_L2.13).	292
Figura 83. Muestra C: Evolución Media de HB en las mujeres del Estadio B.	294
Figura 84. Muestra C: Residuo frente a la predicción de HB (MJ_H2.10).	295
Figura 85. Muestra C: Residuo frente al tiempo de seguimiento (MJ_H2.10).	295
Figura 86. Muestra C: Residuo frente a la predicción de PLAQ (MJ_P2.9).	299
Figura 87. Muestra C: Residuos frente al tiempo de seguimiento (MJ_P2.9).	299
Figura 88. Muestra C: Resumen de la evolución media de PLAQ en estadio B.	300

Índice de Siglas.

ANOVA	Analysis of Variance.
CALGB	Cancer and Leukemia Group B.
CIE	Clasificación Internacional de Enfermedades.
CL	Células Leucémicas.
CLL	Chronic Lymphocytic Leukemia
FAB	French-American-British cooperative group.
FCGCLL	French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia.
Ig	Inmunoglobulina.
IWCLL	International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia.
LDT	Lymphocyte Doubling Time.
LLC	Leucemia Linfocítica Crónica.
LLC-80	Ensayo Clínico del FCGCLL iniciado en el año 1980.
MANOVA	Multivariate Analysis of Variance.
MJ	Modelo Jerárquico.
MV	Máxima Verosimilitud.
MVRE	Máxima Verosimilitud Restringida.
TRV	Test de la Razón de Verosimilitudes.
TTM	Total Tumor Mass score.

Bibliografía.

- Anónimo (1986). Case Records of the Massachusetts General Hospital. New England Journal of Medicine. 314(1):39-49.
- Armitage P., Beary G., (1992). Estadística para la Investigación Biomédica. Edición en Español por la editorial DOYMA. 656 páginas.
- Bastin Ch., Rain D.J., Arnaud M., Borgi E.L., Idriss N., Tamby J., Degos L., Fenigold N., (1976). Les Leucémies Lymphoïdes Chroniques, la diversité des cas et leur évolution. Les Cahiers de l'Analyse des Données. 1(4):419-440.
- Bennett J.M., Raphael B., Oken M.M., Rubin P., Silber R., (1988). The prognosis and therapy of Chronic Lymphocytic Leukemia under age 50 years. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 30(5-6):411-412.
- Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T., Flandrin G., Galton D.A., Gralnick H.R., Sultan C., (1989). Proposals for the classification of chronic (mature) B and T lymphoid leukaemias. French-American-British (FAB) Cooperative Group. J. Clin. Pathol. 42(6):567-584.
- Berkey C.S., and Laird N.M., (1986). Nonlinear Growth Curve Analysis: Estimating the Population Parameters. Annals of Human Biology, 13 (2): 111-128.
- Bernard J., (1990). Ecologie des cellules sanguines normales et leucémiques. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 32:43-48.
- Bernardou A., Bernard J., Bilski-Pasquier G. et Bousser J., (1973). A Propos du Pronostic des Leucemies Lymphoïdes Chroniques. Annales de Médecine Interne. 8-9: 549-560.
- Binet J. L., Auquier A., Dighiero G., Chastang Cl., Piguet H., Coasguen J., Vaugier G., Potron G., Colona P., Oberling F., Thomas M., Tchernia G., Jacquillat Cl., Boivin P., Lesty C., Duault M. T., Monconduit M., Belables S., Gremy F., (1981). A new prognostic classification of Chronic Lymphocytic Leukemia derived from a multivariate analysis. Cancer. 48(1):198-206.
- Boggs D.R., Chen S.C., Zhang Z.N., Zhang A. (1987). Chronic Lymphocytic Leukemia in China. Am. J. Hematol. 25:3 349-354.
- Bonhomme J., Solary E., Caillot D., et al. (1987). Immunoglobulin phenotype in 164 B cell chronic lymphocytic leukemias: is there a relationship with initial clinical stage and survival?. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 29(4): 225-230.
- BMDP, (1992). BMDP Statistical Software Manual. Volume 2. Editor Jefe: Dixon W.J.
- Bryandt E., Gillings D., (1985). Statistical Analysis of Longitudinal Repeated Measures Designs. Biostatistics, 251-282.
- Byar D.P.; Green S.B. (1980). The choice of treatment for cancer patients based on covariate information: Application to prostate cancer. Bull. Cancer. (Paris), 67:4 477-490.
- Caligaris-Capio F., Piezzolo G., Chilosi M., (1985). Phorbol Ester induces abnormal chronic lymphocytic leukemia cells to express features of hairy cell leukemia. Blood 66:1035-1042.
- Case D.C., Porensky R.S., Fanning J.P., (1985). Combination chemotherapy with the M-2 protocol (BNCU, cyclophosphamide, vincristine, melphalan, and prednisone) for Chronic Lymphocytic Leukemia stages III and IV. Oncology. 42(6):350-353.

- Catovsky D., Fooks J., Richards S., (1988). The UK Medical Research Council CLL trials 1 and 2. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 30(5-6):423-427.
- Catovsky D., Fooks J., Richards S., (1989). Prognostic factors in Chronic Lymphocytic Leukemia: the importance of age, sex and response to treatment in survival. A report from the MRC CLL 1 trial. MRC Working Party on Leukaemia in Adults. Br. J. Haematol. 72(2):141-149.
- Chanarin I., Tidmarsh E., Harrisingh D., Skacel P.O., (1984). Significance of lymphocytosis in adults. Lancet 2(8408):897-899.
- Chastang C., Travade P., Auquier A., (1985). Critical discussion of a three-stage prognostic classification for chronic lymphocytic leukemia. Stat. Med. 4(3): 287-293.
- Chastang C., Travade P., Benichou, J., Dighiero, G. and Binet, J.L. (1986). Patient accrual and interim statistical analysis in long-term randomized clinical trials: the French Chronic Lymphocytic Leukemia CLL 80 protocol as a case study. Stat. Med. 5(5): 465-473.
- Cheson B.D., (1988a). Study design in Chronic Lymphocytic Leukemia. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 30(5-6):407-410.
- Cheson B.D., Bennett J.M., Rai K.R., Grever M.R., Kay N.E., Schiffer C.A., Oken M.M., Keating M.J., Boldt D.H., Kempin S.J., Foon K.A., (1988). Guidelines for Clinical Protocols for Chronic Lymphocytic Leukemia: Recommendations of the National Cancer Institute-Sponsored Working Group. Am. J. Hamatol. 29(3):152-163.
- Cheson B.D., Bennett J.M., Rai K.R., Grever M.R., Kay N.E., Schiffer C.A., Oken M.M., Keating M.J., Boldt D.H., Kempin S.J., Foon K.A., (1989). Chronic Lymphocytic Leukemia: recommendations. Ann. Intern. Med. 110(8):664-665.
- Chevret S. (1989). Analyse d'un essai thérapeutique randomise comparant le chlorambucil à l'abstention dans les formes quiescentes de la Leucémie Lymphoïde Chronique: arguments en faveur de la toxicité du chlorambucil. These pour le Doctorat. Faculté de Médecine Xavier-Bichat.
- Conover, W.J. (1980). Practical Nonparametric Statistics, 2d Edition, New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Dempster A.P., Rubin D.B., and Tsutakawa R.K., (1981). Estimation in Covariance Components Models. Journal of the American Statistical Association, Vol. 76, n° 374: 341-353.
- De Rossi G., Granati L., Girelli G., Gandolfo G., Arista M.C., Marteli M., Conti L., Marini R., La Tagliata R., Leone R., Mandelli F., (1988). Incidence and prognostic significance of autoantibodies against erythrocytes and platelets in Chronic Lymphocytic Leukemia. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 30(5-6):403-406.
- De Rossi G., Mandelli F., Covelli A., Luciani M., Martelli M., Resegotti L., Alberti A., Cajozzo A., Deriu L., De Biasi R., et al. (1989). Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) in younger adults: a retrospective study of 133 cases. Hematol. Oncol. 7(2):127-137.
- Desablens B., Claisse J.F., Piprot Choffat C., Gontier M.F., (1989). Prognostic value of bone marrow biopsy in Chronic Lymphocytic Leukemia. A study of 98 initial bone marrow biopsies. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 31(3):179-182.
- Diggle, P. J. (1988). An approach to the analysis of repeated measurements. Biometrics 44, 959-971.

- Dighiero G., Charron D., Debré P., et al. (1979). Identification of a pure splenic form of Chronic lymphocytic leukemia. Br. J. Haematol. 41: 169-176.
- Dighiero, G., Travade, P., Chevret, S., Fenaux, P., Chastang, C., Binet, J.L. and the FCGCLL (1991). B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia: Present Status and Future Directions. Blood 78(8): 1901-1914.
- Dillman R.O., Shawler D.L., Sobol R.E., Collins H.A., Beauregard J.C., Wormsley S.B., Royston I., (1982). Murine Monoclonal Antibody Therapy in two patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. Blood. 59(5):1036-1045.
- Dillman R.O., Mick R., McIntyre O.R., (1989). Pentostatin in Chronic Lymphocytic Leukemia: a phase II trial of Cancer and Leukemia group B. J. Clin. Oncol. 7(4):433-438.
- Dixon, W.J. and Meridian K.L. (1992). ANOVA and Regression with BMDP 5V. Dixon Statistical Associates. Los Angeles.
- Doob J.L., (1990). Stochastic Processes. John Wiley&Sons, New York, 654 p.
- Dörmer P., Theml H., Lau B. (1983). Chronic lymphocytic Leukemia: a proliferative or accumulative disorder?. Leukemia Research 7:11-10.
- Einot I., Gabriel K.R., (1975). A study of the powers of several methods of multiple comparisons. Journal of the American Statistical Association. 70: 351.
- FCGCLL: French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukaemia. (1983). Protocole LLC 80 (2ème édition). Société Française d'Hématologie. Département d'Hématologie, Groupe Hospitalaire Piti-Salpêtrière, PARIS.
- FCGCLL: French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukaemia. (1986). Effectiveness of "CHOP" regimen in advanced untreated chronic lymphocytic leukaemia. Lancet. 1(8494):1346-1349.
- FCGCLL: French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukaemia. (1988a). Therapy of Chronic Lymphocytic Leukemia patients. Results from the French cooperative trials. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 30(5-6):443-448.
- FCGCLL: French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukaemia. (1988b). CHOP regimen versus intermittent chlorambucil-prednisone in stage B Chronic Lymphocytic Leukemia. Short term results from a randomized clinical trial. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 30(5-6):449-452.
- FCGCLL: French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukaemia (1989). Long-term results of the CHOP regimen in stage C Chronic Lymphocytic Leukemia. British Journal of Haematology 73:334-340.
- FCGCLL: French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukaemia (1990a). Natural history of stage A chronic lymphocytic leukaemia untreated patients. British Journal of Haematology 76:45-57.
- FCGCLL: French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukaemia (1990b). Effects of Chlorambucil and Therapeutic Decision in Initial Forms of Chronic Lymphocytic Leukemia (Stage A): Results of a Randomized Clinical Trial on 612 Patients. Blood 75(7):1414-1421.
- Fernandez L.A., MacSween J.M., Langley G.R., (1986). Immunoregulation of B lymphocyte colony formation by T cell subsets in patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. Blood 67(2):294-298.

- Foa R., Fierro M.T., Giovarelli M., Lusso P., Benetton G., Bonferroni M., Forni G., (1987). Immunoregulatory T-cell defects in B-cell Chronic Lymphocytic Leukemia: cause or consequence of the disease?. The contributory role of decreased availability of interleukin 2. Blood Cells 12(2):399-412.
- Foon K.A., Gale R.P., (1988). Clinical transformation of chronic lymphocytic leukaemia. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 30(5-6):385-88.
- Frisch B., Bartl R., (1988). Histologic classification and staging of Chronic Lymphocytic Leukemia. A retrospective and prospective study of 503 cases. Acta Haematol. Basel. 79(3):140-152.
- Fust G., Miszlay Z., Czink E., Varga L., Paloczi K., Szegedi G., Hollan S.R., (1987). C1 and C4 abnormalities in Chronic Lymphocytic Leukemia and their significance. Immunol. Lett. 14(3):255-259.
- Gabriel K.R., (1978). A simple method of multiple comparisons of means. Journal of the American Statistical Association. 73: 364.
- Gale R.P., Foon K.A., (1985). Chronic Lymphocytic Leukemia. Recent advances in biology and treatment. Ann. Intern. Med. 103:1 101-120.
- Gale R.P., Foon K.A., (1987). Biology of Chronic Lymphocytic Leukemia. Semin. Hematol. 24:4 209-229.
- Galton D.A.G., (1966). The Pathogenesis of Chronic Lymphocytic Leukemia. Canad. Med. Assoc. J. 94: 1005-1010.
- Galton D.A.G., Goldman J.M., Wiltshaw E., Catovsky D., Henri K. and Goldenber G.J., (1974). Polymphocytic Leukaemia. British Journal of Haematology. 27: 7-23.
- Geisler C., Ralfkiaer E., Hansen M.M., Hou-Jensen K., Larsen S.O., (1986). The bone marrow histological pattern has independent prognostic value in early stage chronic lymphocytic leukemia. Br. J. Haematol. 62(1): 47-54.
- Ghani A.M., Krause J.R., (1986). Investigation of cell size and nuclear clefts as prognostic parameters in chronic lymphocytic leukemia. Cancer. 58(10):2233-2238.
- Glindmeyer H.W., Diem J.E., Jones R.N and Weill H., (1982). Noncomparability of Longitudinally and Cross-sectionally Determined Annual Change in Spirometry. Am. Rev. Respir. Dis., 125:544-548.
- Goldstein H., (1979). The design and analysis of longitudinal studies. Academic Press Inc. (london) Ltd.
- Goldstein H., (1986). Multilevel mixed linear model analysis using iterative generalized least squares. Biometrika 73 n° 1: 43-56.
- Goldstein H., (1986a). Efficient Statistical Modelling of Longitudinal data. Annals of Human Biology, Vol. 13 n° 2: 129-141.
- Goldstein, H. and McDonald, R.P. (1988). A general model for the analysis of multilevel data. Psychometrika 53, 455-467.
- Goldstein, H. (1989). Restricted unbiased iterative generalized least-squares estimation. Biometrika 76, 622-623.

- Goldstein, H. and Rasbash, J. (1992). Efficient computational procedures for the estimation of parameters in multilevel models based on iterative generalized least squares. Computational Statistics & Data Analysis 13, 63-71.
- Gordon J., Mellstedt H., Aman P., et al. (1984). Phenotypic Modulation of chronic Lymphocytic Leukemia Cells by Phorbol Ester: Induction of IgM secretion and changes in the expression of B-cell associated surface antigens. J. Immunol. 132:541-547.
- Gray J.L., Jacobs A., Blok M. (1974). Bone Marrow and Peripheral Blood Lymphocytosis in the prognosis of Chronic Lymphocytic Leukemia. Cancer. 33:1169-.
- Grellet, J., Curet P., Laemmel M.G., Cazale P., Dighiero G., Binet J.L., (1979). Correlation Between Lymphographic Grouping and Clinical Stages in Chronic Lymphocytic Leukemia. Am. J. Roentgenol. 133: 797-803.
- Grever MR, Kopecky KJ, Coltman CA, et al. (1988). Fludarabine monophosphate: a potentially useful agent in chronic lymphocytic leukemia. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 30:457-9.
- Grizzle J.E., and Allen D.M., (1969). Analysis of Growth and Dose Response Curves. Biometrics. -June- 357-381.
- Hacking C.N., Goodrick M.J., Chisholm M., (1989). Hepatobiliary candidiasis in chronic lymphatic leukaemia. British Medical Journal 299(6715):1568.
- Hamblin, T.J., Oscier, D.G. and Young, B. J. (1986). Autoimmunity in chronic lymphocytic leukaemia. J. Clin. Pathol. 39(7), 713-716.
- Han T., Ozer H., Gavigan M., Gajera R., Minowada J., Bloom M.L., Sadamori N., Sandberg A.A., Gomez G.A., Henderson E.S., (1984a). Benign Monoclonal B Cell Lymphocytosis. A benign variant of CLL: Clinical, Immunologic, Phenotypic, and Cytogenetic Studies in 20 patients. Blood. 64(1):244-252.
- Han T., Barcos M., Emrich L., Ozer H., Gajera R., Gomez G.A., Reese P.A., Minowada J., Bloom M.L., Sadamori N., Sandberg A.A., Henderson E.S., (1984b). Bone marrow infiltration patterns and their prognostic significance in Chronic Lymphocytic Leukemia: correlations with clinical, immunologic, phenotypic, and cytogenetic data. J. Clin. Oncol. 2(6):562-570.
- Han T., Ozer H., Sadamori N., Emrich L., Gomez G.A., Henderson E.S., (1984c). Prognostic importance of cytogenetic abnormalities in patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. N. Engl. J. Med. 310(5):288-292.
- Han T., Emrich L.J., Ozer H., Sandberg A.A., (1985). Prognostic implication of trisomy 12 and non-trisomy 12 karyotypes in B cell Chronic Lymphocytic Leukemia. Blood. 66(2):470-472.
- Han T., Henderson ES., Emrich LJ., Sandberg AA. (1987). Prognostic significance of karyotypic abnormalities in B cell chronic lymphocytic leukemia: an update. Semin. Hematol. 24(4):257-263.
- Hansen M.M., Andersen E., Christensen B.E., Christiansen I., Geisler C., Kristensen D., Jensen K.B., Juker P., (1988). CHOP versus prednisolone plus chlorambucil in chronic lymphocytic leukemia (CLL): preliminary results of a randomized multicenter study. Nouv. Rev. Fr. Hematol; 30 (5-6): 433-436.
- Harville, D.A. (1974). Bayesian inference for variance components using only error contrasts. Biometrika 61, 383-385.

- Harville D.A., (1976). Extension of the Gauss-Markov Theorem to Include the Estimation of Random Effects. The Annals of Statistics, Vol. 4 n° 2: 384-395.
- Harville D.A., (1977). Maximum Likelihood Approaches to Variance Component Estimation and to Related Problems. Journal of the American Statistical Association, Vol. 72, n° 358: 320-340.
- Heath M.E., Cheson B.D., (1985). Defective complement activity in Chronic Lymphocytic Leukemia. Am. J. Hematol 19(1):63-73.
- Hernandez-Nieto L., Montserrat E., Muncunill J., Rozman C., (1977a). Bone-Marrow patterns and clinical staging in Chronic Lymphocytic Leukaemia. Lancet june 11:1269.
- Hernandez-Nieto L., Montserrat E., Muncunill J., Bragues M.R., Grañena A., Nomdedeu B., Feliu E., Rozman C., (1977b). Leucemia Linfática Crónica. Tipos de patrón histológico medular y su relación con los estadios clínicos. Sangre 22(5-b):882-889.
- Hidvegi T., Ermolin G.A., Efremov E.E., Dikov M.M., Kurmanova L.V., Vnashenkova G.V., Merkulova M.V., Kokai M., Panya A., Fust G., (1989). FN-C1q and C1 INH C1r-C1s complexes as indicators of complement activation in patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. Immunol. Lett. 22(1):1-6.
- Hougie M.B., (1956). The Early Diagnosis and Natural History of Chronic Lymphatic Leukemia. Ann. Intern. Med. 45: 39-55.
- IWCLL: International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. (1981). Chronic Lymphocytic Leukemia: Proposals for a revised prognostic staging system. Br. J. Haematol. 48: 365-367.
- IWCLL: International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. (1989). Chronic Lymphocytic Leukemia: recommendations for diagnosis, staging, and response criteria. Ann. Intern. Med. 110(3):236-238.
- Jacobs P., King H.S., (1987). A randomized prospective comparison of chemotherapy to total body irradiation as initial treatment for the indolent lymphoproliferative diseases. Blood. 69(6):1642-1646.
- Jakšić B., Vitale B., (1981). Total Tumour Mass Score (TTM): a new parameter in Chronic Lymphocytic Leukaemia. Br. J. Haematol. 49:405-413.
- Jennrich R.I., and Schluchter M.D. (1986). Unbalanced Repeated-Measures Models with Structured Covariance Matrices. Biometrics 42: 805-820.
- Juliusson G., Gahrton G., (1985). Prognostic implication of trisomy 12 and non-trisomy 12 karyotypes in B cell Chronic Lymphocytic Leukemia. Blood. 66(2):470-472.
- Keating MJ, O'Brien S, Kantarajian H, et al. (1993). Long-term follow-up of patients with fludarabine as a single agent. Blood. 81:2878-84.
- Keumhee Chough Carriere, (1994). Incomplete repeated measures data analysis in the presence of treatment effects. Journal of the American Statistical Association, Vol. 89, n° 426: 680-686.
- Kimby E., Mellstedt H., Nilsson B., Bjorkholm M., Holm G., (1987). T lymphocyte subpopulations in Chronic Lymphocytic Leukemia of B cell type in relation to immunoglobulin isotype/s on the leukemic clone and to clinical features. Eur. J. Haematol. 38(3):261-267.

- Kleinbaum D.G., (1973). A Generalization of the Growth Curve Model Which Allows Missing Data. Journal of Multivariate Analysis, 3: 117-124.
- Kleinbaum D.G. (1988) Applied Regression analysis and other multivariable methods. PWS-Kent Publishing Company.
- Laird, N.M., and Ware J.H., (1982). Random-Effects Models for Longitudinal Data. Biometrics 38: 963-974.
- LaTour S.A., and Miniard P.W., (1983). The Misuse of Repeated Measures Analysis in Marketing Research. Journal of Marketing Research, February 45-57.
- Lauria F., Foa R., Mantovani V., Fierro M.T., Catovsky D., Tura S., (1983). T-cell functional abnormality in B-Chronic Lymphocytic Leukemia: evidence of a defect of the T-helper subset. Br. J. Haematol. 54(2):277-283.
- Lee J.S., Dixon D.O., Kantarjian H.M., Keating M.J., Talpaz M., (1987). Prognosis of Chronic Lymphocytic Leukemia: a multivariate regression analysis of 325 untreated patients. Blood. 69(3):929-936.
- Levene H., (1960). Robust tests for equality of variance. In Contributions to Probability and Statistics, ed. I. Olkin. Palo Alto: Stanford University Press.
- Linden A., Zankovich R., Theissen P., Diehl V., Schicha H., (1989). Malignant lymphoma: bone marrow imaging versus biopsy. Radiology. 173(2):335-339.
- Linnet MS. (1985). The Leukemias: epidemiologic aspects. Oxford University Press, New York.
- Linnet M.S., McCaffrey L.D., Humphrey R.L., Brookmeyer R., Van Natta M.L., Tielsch J.M., Bias W.B., Markowitz J.A., Kravitz S.C., Szklo M., (1986). Chronic Lymphocytic Leukemia and acquired disorders affecting the immune system a case-control study. J. Natl. Cancer Inst. 77(2): 371-378.
- Little R.J.A., y Rubin D.B., (1987). Statistical Analysis with Missing Data. New York: Wiley.
- McLean and Sanders., (1988). Approximating Degrees of Freedom for Standard Errors in Mixed Linear Models. Proceedings of the Statistical Computing Section, American Statistical Association. New Orleans, 50-59.
- Markey G.M., Alexander H.D., Agnew A.N., McConnell R. E., Morris T.C., Robertson J.H., Crockard A.D., Bridges J.M., (1986). Enumeration of absolute numbers of T lymphocyte subsets in B-Chronic Lymphocytic Leukemia using an immunoperoxidase technique: relation to clinical stage. Br. J. Haematol. 62(2):257-273.
- Melo J.V., Catovsky D., Galton D.A., (1986a). The relationship between Chronic Lymphocytic Leukemia and prolymphocytic leukaemia. I. Clinical and laboratory features of 300 patients and characterization of an intermediate group. Br. J. Haematol. 63(2):377-387.
- Melo J.V., Catovsky D., Galton D.A., (1986b). The relationship between Chronic Lymphocytic Leukemia and prolymphocytic leukaemia. II. Patterns of evolution of 'prolymphocytoid' transformation. Br. J. Haematol. 64(1):77-86.
- Melo J.V., Wardle J., Chetty M., England J., Lewis S.M., Galton D.A., Catovsky D., (1986c). The relationship between Chronic Lymphocytic Leukemia and prolymphocytic leukaemia. III. Evaluation of cell size by morphology and volume measurements. Br. J. Haematol. 64(3):469-478.

- Melo J.V., Catovsky D., Gregory W.M., Galton D.A., (1987). The relationship between Chronic Lymphocytic Leukemia and prolymphocytic leukaemia. IV. Analysis of survival and prognostic features. *Br. J. Haematol.* 65(1):23-29.
- Miller R.H., Linet M.S., Van Natta M.L., McCaffrey L.D., Humphrey R.L., (1987). Serum protein electrophoresis patterns in Chronic Lymphocytic Leukemia. Clinical and epidemiologic correlations. *Arch. Intern. Med.* 147(9): 1614-1617.
- Miszlai Z., Czink E., Varga L., Paloczi K., Szegedi G., Fust G., Hollan S.R., (1986). Repressed classical complement pathway activities and clinical correlations in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Acta. Med. Hung.* 43(4):389-395.
- Molica S., Alberti A., (1986). Prognostic value of "total tumor mass score" (TTM): a retrospective analysis of 130 patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. *Tumori.* 72(6):559-564.
- Molica S., Alberti A., (1987). Prognostic value of the lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 60(11):2712-2716.
- Molica, S. (1991). Progression and Survival Studies in Early Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood* 78(4): 895-899.
- Molica, S., De Rossi, G., Luciani, M., Levato, D. (1995). Prognostic features and therapeutical approaches in B-Cell chronic lymphocytic leukemia: an update. *Haematologica* 80(2): 176-193.
- Montserrat E., Rozman C., (1983). Bone marrow biopsy in Chronic Lymphocytic Leukemia: a study of 208 cases. *Haematologia Budap.* 16(1-4):73-79.
- Montserrat E., Rios A., Vallespí T., (1985a). Biopsias Medulares Secuenciales en la leucemia linfática crónica. *Sangre* 30:120-.
- Montserrat E., Alcalá A., Parody R., Domingo A., García Conde J., Bueno J., Ferran C., Sanz M.A., Giralte M., Rubio D., Anton I., Estapé J., Rozman C., (1985b). Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia in advanced stages. A randomized trial comparing chlorambucil plus prednisone versus cyclophosphamide, vincristine, and prednisone. *Cancer.* 56(10):2369-2375.
- Montserrat E., Sanchez Bisoso J., Viñolas N., Rozman C., (1986). Lymphocyte doubling time in Chronic Lymphocytic Leukemia: analysis of its prognostic significance. *Br. J. Haematol.* 62(3):567-575.
- Montserrat E., Viñolas N., Reverter J.C., Rozman C., (1988). Natural History of chronic lymphocytic leukemia: on the progression and progression and prognosis of early clinical stages. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* 30(5-6):359-361.
- Muñoz, A., Carey, V., Schouten, J.P., Segal, M. and Rosner, B. (1992). A parametric family of correlation structures for the analysis of longitudinal data. *Biometrics* 48, 733-742.
- Müller H.G., (1988). Nonparametric regression analysis of longitudinal data. Lecture notes in statistics. *Springer-Verlag.* 199 p.
- Najean Y., and Deschrywer F. (1986). Mecanismos des cytopenias de la Leucemie Lymphoide Chronique: interet pour le pronostic. *Presse Médicale* 15, 2231-2234.
- Orland M.J. y Saltman R.J., (1986). Manual de Terapéutica Médica. Sexta edición. SALVAT EDITORES S.A.

- Oscier D.G., Fitchett M., Hamblin T.J., (1988). Chromosomal abnormalities in B-CLL. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 30(5-6): 397-398.
- Pangalis GA., Roussou PA., Kittas C., Kokkinou S., Fessas P. (1987). B-chronic lymphocytic leukemia. Prognostic implications of bone marrow histology in 120 patients experience from a single hematology unit. Cancer. 59(4): 767-771.
- Pangalis G.A., Boussiatis V.A., Kittas C., (1988). B-Chronic Lymphocytic Leukemia: disease progression in 150 untreated stage A and B patients as predicted by bone marrow pattern. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 30(5-6):373-375.
- Pegourie B., Sotto J.J., Hollard D., Michallet M., Sotto M.F., (1987). Splenectomy during Chronic Lymphocytic Leukemia. Cancer. 59(9):1626-1630.
- Perri R.T., Kay N.E., (1986). Abnormal T cell function in early-stage Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) patients. Am. J. Hematol. 22(1):55-61.
- Pillai K.C.S. (1960). Statistical table for tests of multivariate hypotheses. Manila: The Statistical Center. University of Philippines.
- Pittman S., Catovsky D., (1984). Prognostic significance of chromosome abnormalities in Chronic Lymphocytic Leukemia. Br. J. Haematol. 58(4):649-660.
- Proser, R., Rabash, J. and Goldstein, H. (1990). ML3: Software for the three-level analysis. Institute of Education, University of London.
- Rai K. R., Sawitski A., Cronkite E. P., Chanana A. D., Levy R. N., Pasternack B.S. (1975). Clinical Staging of Chronic Lymphocytic Leukemia. Blood. 46(2):219-234.
- Ralfkiaer E., Geisler C., Hansen M.M., Hou Jensen K., (1983). Nuclear clefts in Chronic Lymphocytic Leukemia. A light microscopic and ultrastructural study of a new prognostic parameter. Scand. J. Haematol. 30(1):5-12.
- Rao C.R., (1965). The Theory of Least Squares when the Parameters are Stochastic and its Application to the Analysis of Growth Curves. Biometrika. 52: 447-458.
- Rao C.R., (1973). Linear statistical inference and its Applications. 2d Edition, New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Rao C.R., (1975). Simultaneous Estimation of parameters in Different Linear Models and Applications to Biometrics Problems. Biometrics 31: 545-554.
- Raphael M., Poyart F., Diebold J., Sultan C., et al. (1983). A propos de 109 cas avec analyse statistique et correlations anatomo-cliniques. Annales de Pathologie.
- Raphael M., Debré P., Guigui B., Binet J.L., (1988a). Lymph node biopsy in chronic lymphocytic leukemia: prognostic significance of histopathological, morphometry and immunohistological findings. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 30(5-6):379-383.
- Raphael M., Chastang C., Binet J.L., (1988b). Is bone marrow biopsy a prognostic parameter in B-CLL?. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 30(5-6):377-378.
- Roberts J.D., Tindle B.H., MacPherson B.R., (1989). Prolymphocytic transformation of Chronic Lymphocytic Leukemia: a case report of lengthy survival after intensive chemotherapy. Am. J. Hematol. 31:2 131-132.

- Rossi P.L., Alfano G., D'Onofrio G., Menichella G., Mango G., (1986). Depletion lymphocytapheresis in Chronic Lymphocytic Leukemias: criteria for predicting which patients will respond to treatment. Int. J. Artif. Organs. 9(1):59-62.
- Royston, P. (1993). A pocket-calculator algorithm for the Shapiro-Francia test for non-normality: an application to medicine. Statistics in Medicine 12. 181-184.
- Rozman C., Montserrat E., Feliu E., Grañena A., Marín P, Nondedeu B, Vives Corrons J.L., (1982). Prognosis of Chronic Lymphocytic Leukemia: A Multivariate Survival Analysis of 150 Cases. Blood 59(5):1001-1005.
- Rozman C., Montserrat E., Rodriguez J.M., Ayats R., Vallespi T., Parody R., Rios A., Prados D., Morey M., Gomis F., Alcalá A., Gutierrez M., Maldonado J., Gonzalez C., Giralt M., Hernandez-Nieto L., Cabrera A., Fernandez-Rañada J.M., Bruges R., (1984a). Biopsia medular en la leucemia linfática crónica y sus correlaciones clínico-hematológicas. Sangre 29(6):1008-1017.
- Rozman C., Montserrat E., (1984b). Leucemia linfática crónica: tendencias actuales. Neoplasia 1(3):91-94.
- Rozman C., Montserrat E., Rodriguez J.M., et al., (1984c). Bone Marrow Histologic Pattern. The Best Single Pronóstico Parameter in Chronic Lymphocytic Leukemia: A Multivariate Survival Analysis of 329 Cases. Blood. 64(3):642-48.
- Rozman C., Montserrat E., Rodriguez J.M., Ayats R., Vallespi T., Parody R., Rios A., Prados D., Morey M., Gomis F., Alcalá A., Gutierrez M., Maldonado J., Gonzalez C., Giralt M., Hernandez-Nieto L., Cabrera A., Fernandez-Rañada J.M., Bruges R., (1984d). ¿La leucemia linfática crónica acorta la vida?. Sangre. 29(2):156-163.
- Rozman C., Montserrat E., Rodriguez J.M., et al., (1985). Pronóstico de la leucemia linfática crónica: ¿estadios clínicos o histopatología medular?. Med. Clin. Barc. 85(13):521-524.
- Rozman C., Montserrat E., Viñolas N., (1988). Serum immunoglobulins in B-Chronic Lymphocytic Leukemia. Natural history and prognostic significance. Cancer. 61(2):279-283.
- Rozman C. y Monserrat E. (1988a). En: Rozman C., "Medicina Interna" Editorial: DOYMA.
- Rozman C. y Montserrat E., (1988b). Critical factors in new therapeutic approaches in Chronic Lymphocytic Leukemia. Nouv. Rev. Fr. Hematol. 30(5-6):453-455.
- Rozman C. y Montserrat E., (1989). Chronic Lymphocytic Leukemia: when and how to treat. Blut. 59(6):467-474.
- Rozman M., Montserrat E., Bruguera M., Grau J.M., Teres J., Rozman C., (1989a). Leucemia Linfocítica Crónica e hipertensión portal: ¿una asociación causal?. Medicina Clínica Barcelona 92(1):26-28.
- Rozman C., Monserrat E., Rozman M., Bladé J., Cervantes F. (1989b). Análisis de la respuesta al tratamiento. Consideraciones sobre las variables pronósticas evolutivas tiempo-dependientes. Medicina Clínica. 92: 52-55.
- SAS Institute Inc., (1989). SAS/STAT® User's guide, version 6, fourth edition, volume 2, Cary, NC: SAS Institute Inc. 846 p.
- SAS Technical Report P-229, (1992). SAS/STAT® Software: Changes and Enhancements, Release 6.07, Cary, NC: SAS Institute Inc. 620 p.

- Sanz, M. A. (1989). Stratified accelerated failure time models for censored data. Unpublished paper presented to the 1989 Joint Statistical Meetings, Washington D.C.
- Schluchter M.D., (1988). Analysis of Incomplete Multivariate Data Using Linear Models with Structured Covariance Matrices. Statistics in Medicine, Vol. 7: 317-324.
- Seber, G.A.F. (1984). Multivariate Observations. John Wiley and Sons, Inc.
- Shapiro S.S., Francia R.S., (1972). An approximate analysis of variance test for normality. J. Am. Stat. Assoc 67:215-216.
- Shapiro S.S., Wilk M. B., (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). Biometrika. 52:591-611.
- Sheibani K.; Forman S.J.; Winberg C.D.; Rappaport H. (1983). Coincidence of B cell chronic lymphocytic leukaemia and cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides): immunologic characterization by monoclonal antibodies. Blood 62(6):1176-1181.
- Simonsson B., Danersund A., Totterman T.H., Nilsson K., Wibell L., (1986). Production of 2-microglobulin by Chronic Lymphocytic Leukemia cells in vitro. Scand. J. Haematol. 36(5):424-429.
- SPSS® for Windows™: Base System User's Guide, Release 6.0. (1993). Norušis, SPSS Inc.
- Stark A.N., Limbert H.J., Roberts B.E., Jones R.A., Scott C.S., (1986). Polymphocytoid transformation of CLL: a clinical and immunological study of 22 cases. Leukemia Research 10(10):1225-1232.
- Stein R.S., Weikert D., Reynolds V., Green J.P., Flexner J.M., (1987). Splenectomy for end-stage Chronic Lymphocytic Leukemia. Cancer 59(10):1815-1818.
- Touw I., Dorssers L., Lowenberg B., (1987). The proliferative response of B cell Chronic Lymphocytic Leukemia to interleukin 2: functional characterization of the interleukin 2 membrane receptors. Blood 69(6):1667-1673.
- Travade P.; Dusart J.D.; Cavaroc M.; Beytout J.; Rey M. (1986). Severe infections associated with chronic lymphoid leukemia, 159 infectious episodes in 60 patients. Presse Medicale 15(34):1715-1718.
- Viñolas N., Reverter J.C., Urbano Ispizua A., Montserrat E., Rozman C., (1987). Lymphocyte doubling time in Chronic Lymphocytic Leukemia: an update of its prognostic significance. Blood Cells. 12(2):457-470.
- Viñolas N., (1988). Estudio de la Historia Natural de la Leucemia Linfática Crónica. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona.
- Vitale B., Antica M., Benkovic B., Burek B., Jaksic B., (1985). The relationship between membrane characteristics, functional reactivity of T-lymphocytes, and the progression rate of B-cell Chronic Lymphocytic Leukemia. Cancer 56(5):1075-1081.
- Ware J.H., (1985). Linear Models for the Analysis of Longitudinal Studies. The American Statistician, Vol. 39 n° 2: 95-101.
- Weerahandi, S. (1995). ANOVA under Unequal Error Variances. Biometrics 51, 589-599.
- Wishart J., (1938). Growth rate determinations in nutrition studies with the bacon pig and their analysis. Biometrika. 30: 16-28.

Zerbe G.O., Wu M.C., and Zucker D.M., (1994). Studying the relationship between change and initial value in longitudinal studies. Statistics in Medicine. Vol. 13: 759-768.

Zigheboim J., Stein J.H., (1983). Neoplasias de células B y células T distintas del Linfoma. En: Medicina Interna. Ed: Salvat. Tomo II: 1737-1743.

DOCTORAL DISSERTATION ABSTRACTS

Dissertation Abstracts International Section C

Title: Evolution of Chronic Lymphocytic Leukaemia patients: a study of haemoglobin concentration, platelets count and number of lymphocytes.

Abstract:

The natural history of Chronic Lymphocytic Leukaemia patients is little known. Also it is unknown, the clinical meaning of statistical association between variables useful in the patients prognostic classification. Recently, they have been described paradoxical results in patients treated with chlorambucil.

This doctoral dissertation studies the evolution of haemoglobin concentration, the platelets count and lymphocytes number in patients classified in A or B strata of Binet (1981) prognostic classification, taking into account the initial values of such variables, age, sex, number of affected lymphatic areas and random treatment assigned.

The used data correspond to 968 patients included in LLC-80 clinical trial and followed during a maximum of seven years, by different number of clinical balances. The analysis of initial values was accomplished through multivariate models (MANOVA) that permit to study three response variables simultaneously. The evolution of such responses was analyzed through appropriate hierarchical models (MIXED ANOVA) for longitudinal data.

The results confirm an increase in the lymphocytes number, after an initial fall in the treated patients; the haemoglobin concentration reduces in time, except in a group of A strata patients treated with chlorambucil (paradoxical effect on the evolution). There are observed differences in the platelets count evolution, related to the initial values and the assigned treatment.

Finally, it is outlined a patients classification according to the initial haemoglobin concentration and platelets count levels (ZONE), that contains information on patient bone marrow state and has a clear meaning in relationship to the subsequent evolution of responses.

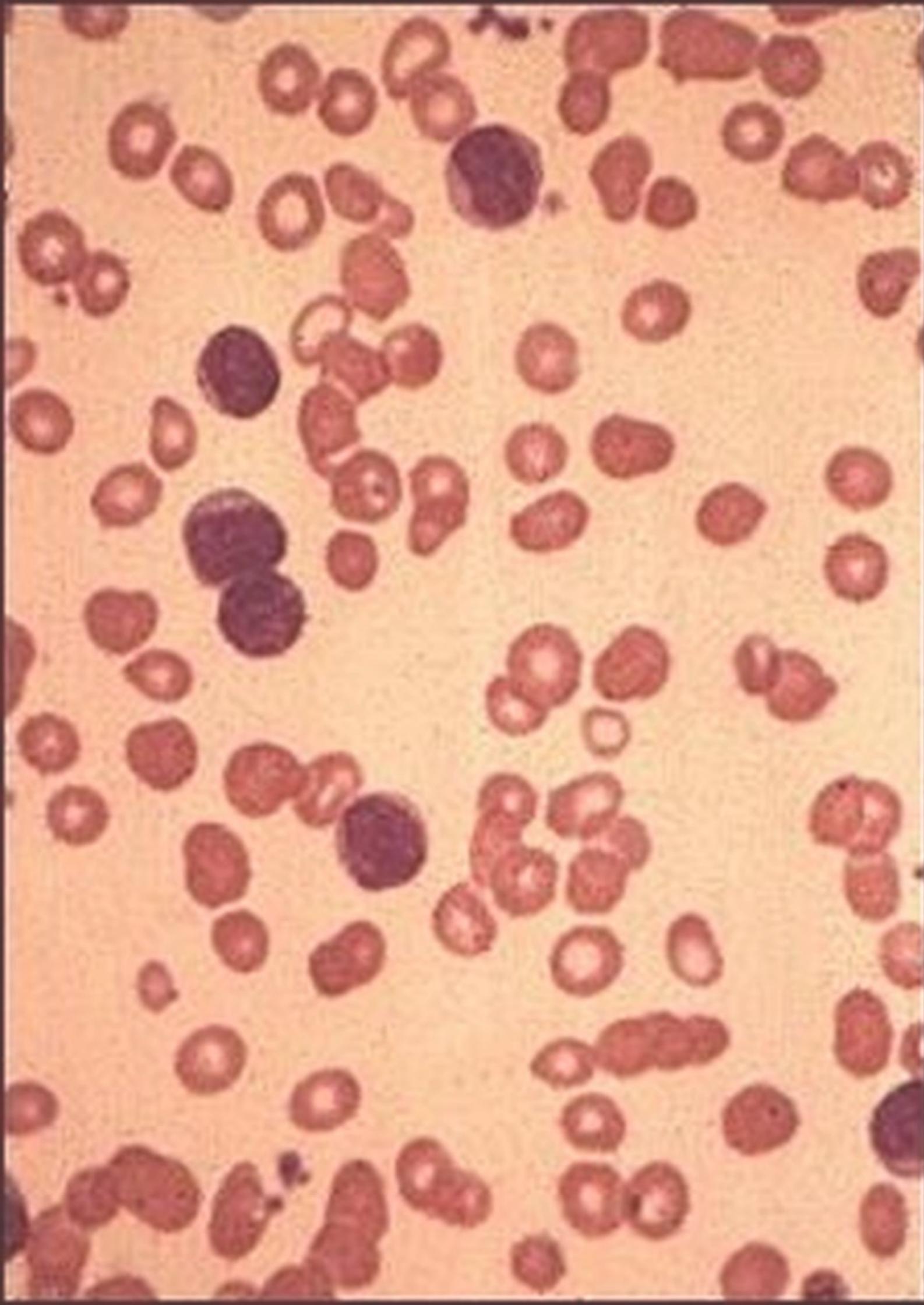




Foto del Autor.

Carlos R. Cardenas

Desde el año 1989, el autor de esta tesis es profesor de Bioestadística y Epidemiología en la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea. Actualmente vive en Castro-Urdiales en compañía de su compañera Carmen e hijos Adrián y Fabio que fueron su verdadero soporte y fuente de inspiración durante los años de realización de la tesis doctoral. Pocos meses después de la presentación de la tesis en 1997, la familia se amplió con el nacimiento de Darío, que fue el mejor premio al trabajo realizado.