

META-ANÁLISIS PARA EVALUAR LA SEGURIDAD DE LA VACUNA EGF EN PACIENTES CON CÁNCER DE PULMÓN AVANZADO.

Carmen Elena Viada González*, T. Crombet Ramos*, G. M. González Marinillo*, M. Osorio Rodríguez**, E. Neninger Vinajera*** y M. Catalá Ferrer, M****

*Centro de Inmunología Molecular (CIM)

**Instituto Nacional de Oncología y Radiología (INOR)

***Hospital "Hermanos Almeijeiras" (HHA)

****Centro de Investigaciones Médico Quirúrgica (CIMEQ)

RESUMEN

En este trabajo se presenta un meta-análisis con los datos de 6 ensayos clínicos con la vacuna de Factor de Crecimiento Epidérmico en pacientes con cáncer avanzado de pulmón de células no pequeñas, con el objetivo de evaluar la seguridad de la vacuna terapéutica.

El estudio incluyó 221 pacientes de 6 ensayos clínicos distribuidos como sigue: Piloto I (12 pacientes), Piloto II (34 pacientes), Piloto III (25 pacientes), Piloto IV (42 pacientes), Piloto V (28 pacientes) y Fase II (80 pacientes). El mismo se desarrolló en 6 de las 14 provincias del país durante un periodo prolongado hasta la muerte del paciente. Para evaluar la seguridad de la vacuna se analizó el comportamiento de las variables de laboratorio hematológicas y hemoquímicas y la aparición de eventos adversos durante la ejecución del estudio.

La mayoría de los eventos adversos encontrados fueron ligeros y moderados y no estuvieron relacionados con el producto administrado durante el estudio. La vacunación con EGF es segura en pacientes con cáncer de pulmón avanzado, influye en la supervivencia del paciente y por tanto mejora la calidad de vida del mismo.

ABSTRACT

Purpose: In this work we undertook a meta-analysis of pooled data from 6 Clinical Trials of vaccination with Epidermal Growth Factor (EGF) in patients with advanced non small cell lung cancer (NSCLC). We realize a meta-analysis with the objective to evaluate the safety of vaccine.

Patients and methods: 221 patients with advanced disease were included in 6 Clinical Trials and vaccinated with the EGF Vaccine with the following distribution: Pilot I (12 patients), Pilot II (34 patients), Pilot III (25 patients), Pilot IV (42 patients) Pilot V (28 patients) and Phase II (80 patients). The trials were designed to evaluate the immunogenicity and safety of the vaccine using different adjuvants (alum and Montanide ISA 51), cyclophosphamide pre-treatment or not so as different dosages of the Vaccine). To evaluate the safety of vaccine we analyzed the behavior of all hematological and hemochemical laboratory variables and the apparition of adverse events during the time of study.

The majority of adverse event found was light and moderate and they weren't always related with the product administered during the study.

Conclusion: Vaccination with EGF is safe and influence in survival of advanced NSCLC patients, therefore it improves the quality of live in patient with advanced lung cancer.

Key words: safety analysis, meta-analysis, general linear mixed model, longitudinal data analysis, missing data.

MSC 62P10

1. INTRODUCCIÓN

La literatura científica muestra que existen vacunas terapéuticas, factibles y prometedoras contra el cáncer. Más de 50 vacunas de cáncer son reportadas en ensayos clínicos y más de 10 se han llevado a cabo en ensayos Fase III. Muchos antígenos asociados al tumor han sido identificados, y han mostrado claramente que ambas respuestas la inmune celular y la humoral pueden ser elisadas en pacientes contra estos antígenos, aún cuando algunos de ellos no son mutados. Sin embargo, el éxito de estas inmunizaciones no muestra aún una ventaja clínica clara.

La mayoría de los ensayos clínicos publicados hasta ahora han sido pequeños estudios Fase I/II con variable principal seguridad e inmunogenicidad, y algunos estiman preliminarmente la respuesta clínica a través de la razón de remisión. El efecto de supervivencia no ha sido ampliamente investigado.

Además, una parte sustancial de la experiencia clínica acumulada ha sido obtenida en melanoma. Existen pocos datos en pacientes con tumores más comunes, especialmente existen pocos datos en cáncer de pulmón avanzados, la situación más prevalente y fatal oncológica a nivel mundial.

Durante los últimos 10 años han sido estudiados los efectos de la vacunación contra el Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF), primero en los estudios preclínicos, y luego en pacientes con cáncer de pulmón avanzados. En animales de laboratorio se ha demostrado que la respuesta a anticuerpos puede ser elisada contra EGF, y que tales respuestas a anticuerpo correlacionan con la sobrevida cuando los animales cambian con el tumor que expresa los receptores de EGF. En los estudios clínicos más de 200 pacientes han sido inmunizados, en una serie de 5 ensayos clínicos piloto consecutivos y un ensayo Fase II, explorando diversos adyuvantes, dosis y esquemas de vacunación. Parte de los resultados han sido previamente publicados de manera independiente. En el presente artículo llevamos a cabo el análisis de la unión de los datos de esta serie de ensayos, dirigiendo particular atención a la seguridad de la vacuna.

2. META-ANÁLISIS

El meta-análisis constituye una investigación que necesita de un diseño y una estructura adecuados, requiere de un protocolo y una secuencia de pasos a seguir. Uno de los aspectos más importantes que enfrentan los investigadores cuando realizan un meta-análisis es su diseño. Con el desarrollo del meta-análisis se ha puesto de manifiesto un incremento en la atención al desarrollo de los temas metodológicos de la revisión científica de los investigadores y editores a estos aspectos Sánchez J (1989). La declaración de CONSORT Begg C (1996) para la publicación de ensayos clínicos constituye un ejemplo de lo anteriormente planteado.

El diseño de un meta-análisis puede resumirse en las siguientes etapas:

1. **Fundamentación del problema:** Enunciar con claridad y precisión el problema que va a ser objeto de revisión. Es tarea primordial del investigador dejar nítidamente argumentado el problema y el contexto donde se encuentra la interrogante que motivó la investigación que se diseñará, así como de la definición correcta de las variables de resultado, explicativas o de confusión que se estudiarán.

En el Centro de Inmunología Molecular (CIM) se produce del preparado vacunal con el factor de crecimiento epidérmico humano recombinante como tratamiento a pacientes con tumores de pulmón de origen epitelial. Se realizaron 6 ensayos clínicos 2 monocéntricos (Piloto I y Piloto V) y 4 multicéntricos prospectivo, 5 controlados excepto Piloto V que fue no controlado con 221 pacientes aleatorizados en 2 grupos formados mediante el principio “doble a ciegas” excepto el Fase II que fue abierto, en 9 sitios clínicos en 6 provincias del país. La distribución por ensayo se muestra a continuación:

Tabla 2.1 Distribución de pacientes por Ensayos y por Grupo de Tratamiento

Ensayos	TT Alum 50mg	P64 Alum 50mg	P64 Mont 50mg	P64 Alum 71mg	P64 Alum 142mg	P64 Mont 200mg	Control	Total
Piloto I	7	5						12
Piloto II		17	17					34
Piloto III		13	12					25
Piloto IV				21	21			42
Piloto V						28		28
Fase II			40				40	80
Total	7	35	69	21	21	28	40	221

2. **Planteamiento de los objetivos:** Plantear las interrogantes a través de objetivos. De manera general se plantean un objetivo principal o general, los mismos deben ser planteados de forma concisa, precisa, sin ambigüedades; esto es responder de manera explícita a la pregunta de investigación. En ocasiones a los objetivos generales le corresponden uno o más objetivos secundarios L'Abbé KA (1994).

Objetivos Generales

Evaluar la seguridad del preparado vacunal Factor de Crecimiento Epidérmico Recombinante EGFr en pacientes con cáncer de pulmón avanzados

Objetivos Específicos

1. Evaluar la influencia de la vacuna en diferentes parámetros de laboratorio.
2. Evaluar la aparición de eventos adversos y su grado de intensidad.
3. **Criterios de inclusión:** La determinación de si se incluye o no un estudio en el meta-análisis está estrechamente ligada a los criterios de inclusión, éstos no son estándares o universales ya que los meta-análisis pueden aplicarse a una gran variedad de situaciones. De manera general se les denomina criterios de inclusión y exclusión, aunque algunos autores prefieren llamarlos criterios de elegibilidad BACALLAO J (1998) basado en que los criterios de inclusión en un ensayo clínico son condiciones que se deben satisfacer en su totalidad, al faltar uno de ellos un individuo no puede ser incluido en el estudio y basta con que se presente tan solo uno de los criterios de exclusión para ser excluido. Los criterios de inclusión basan su variabilidad en los objetivos de la investigación, la fundamentación de los criterios es tan importante como su enunciación, así como el registro de los estudios encontrados, incluso los que quedan excluidos.

Criterios de inclusión comunes

- Pacientes portadores de cáncer de pulmón de células no pequeñas, confirmado por técnicas citohistológicas, en estadios avanzados (IIIb y IV), no susceptibles de recibir otra terapia oncoespecífica.
- Pacientes portadores de lesiones medibles, definidas como aquellas que puedan ser exactamente medidas en al menos una dimensión (se refiere al diámetro mayor) y poseen un diámetro igual o mayor que 20 mm usando técnicas convencionales (PET, TAC, RMN, Rx) o mayor o igual que 10 mm usando TAC espiral.
- Pacientes que hayan concluido la última terapia oncoespecífica, al menos 4 semanas antes de la inclusión en el protocolo
- Edad desde 18 hasta 75 años, de ambos sexos
- Estado general según ECOG < 2 (Karnofsky > 60 %).
- Pacientes que posean funcionamiento normal de órganos y de la médula ósea definidos por los siguientes parámetros:
 - Hemoglobina ≥ 9 g/L
 - Leucocitos $\geq 3000/\mu\text{L}$
 - Conteo de plaquetas $\geq 100000/\mu\text{L}$
 - TGP y TGO ≤ 2.5 veces el límite normal superior institucional
 - Creatinina sérica: ≤ 132 mmol/L
 - Fosfata Alcalina
- Expectativa de vida de 3 meses.
- Pacientes del sexo femenino en edad fértil deberán poseer una prueba de embarazo negativo y deberán emplear métodos contraceptivos tales como dispositivos intrauterinos, anticonceptivos hormonales, métodos de barrera o ligadura de trompas.
- Pacientes que hayan firmado el consentimiento informado.

Criterios de exclusión comunes

- Pacientes que hayan recibido quimioterapia o radioterapia dentro de las 4 semanas previas a la inclusión en el protocolo.
- Pacientes embarazadas o lactando
- Pacientes en edad fértil que no estén usando un método de anticoncepción adecuado
- Pacientes que estén recibiendo otra droga en investigación.
- Pacientes con historia de alergia a compuestos de composición química o biológica semejantes a la droga en evaluación.
- Pacientes portadores de enfermedades intercurrentes no controladas incluyendo infecciones activas, insuficiencia cardiaca congestiva sintomática, angina de pecho inestable, arritmia cardiaca, y enfermedades psiquiátricas.

- Presencia de un segundo tumor. Si podrán incluirse aquellos pacientes que hayan recibido tratamiento adecuado para carcinomas (basal o escamoso) de la piel.
 - Pacientes incapaces de firmar el consentimiento informado.
4. **Recogida de datos:** Al revisar y resumir la información recogida, hay que tener especial cuidado en no duplicar la información debido a la relativa frecuencia con que aparecen los mismos datos, o parte de estos, publicados más de una vez en diferentes artículos. Es frecuente la creación de formularios para la recogida de los datos donde se incluyen algunas medidas de interés L'Abbé KA (1994). En el proceso de recogida de los datos se puede tropezar con varias dificultades. Es posible que la información más relevante en los estudios no esté publicada en los artículos, limitación importante para la realización de un meta-análisis, el obtener esta información puede ser un hecho complejo y difícil. Otro obstáculo estriba en la calidad del proceso de resumen de los datos, que de tener errores provocaría sesgos potenciales, por lo que algunos autores recomiendan el estudio del tema de forma independiente por dos o más investigadores confrontando los resultados al final para disminuir los errores Sánchez J (1989).

La información fue extraída de las base de datos originales creadas para cada ensayo clínico participante en esta investigación. Para ello se creó una única base de datos con la información de todos los ensayos y con las variables correspondiente a tres de los modelos del Cuaderno de Recogida de Datos (CRD):

1. Evaluación Inicial, donde se recogen las características generales del paciente: Hospital, No. de Inclusión, Iniciales, Grupo de Tratamiento, Tiempo de Evaluación, Edad, Sexo, Estadio y Estado General.
2. Laboratorio Clínico, donde se recogen los parámetros hematológicos (Hemoglobina, Leucocitos, Plaquetas) y los parámetros hemoquímicos (ALAT TGP, ASAT TGO, Fosfatasa Alcalina y Creatinina)
3. Eventos Adversos, donde se recogen los eventos adversos ocurridos durante la investigación relacionados o no con el producto administrado, así como su grado de intensidad.

Precisamente la forma en que fue creada la base de datos a partir de los datos originales garantiza la no introducción de errores y por ende de sesgos en este estudio.

5. **Evaluación de la calidad del estudio:** Existen muchas posibilidades de error y sesgo. Una conducta beneficiosa antes de realizar un meta-análisis es hacer una evaluación, por más de un revisor, de la calidad de cada estudio y posteriormente comentar sus desacuerdos en una reunión de consenso. Es recomendable para llevar a cabo la evaluación de los trabajos crear un protocolo de evaluación de la calidad y un formulario para los datos, establecer las diferentes medidas e indicadores de calidad y finalmente relacionar los resultados con las puntuaciones para determinar el efecto de la calidad del estudio en los resultados encontrados.

Todos estos estudio fueron evaluados y aprobados por los Comité de Revisión y Ética (CRE) de cada Institución participante así como por la Agencia Reguladora Cubana CECMED antes de comenzar el estudio, así como al finalizar los mismos. Por otra parte este meta-análisis no se caracterizó por la revisión de literatura científica sino por la unión de 6 ensayos clínicos con características similares y la selección de un grupo de variables de interés comunes a los mismos, lo cual garantiza la calidad del estudio.

6. **Procedimientos estadísticos:** Tres aspectos configuran el marco general estadístico y lógico para el meta-análisis. En primer lugar, ¿son las medidas de resultado final compatibles entre los distintos estudios? o dicho de otra manera, ¿es posible combinar los estudios de manera razonable?. En segundo lugar, ¿las variaciones de los resultados de los estudios se correlacionan con las variaciones en las características del estudio? Y, por último, ¿cual es la mejor estimación del valor y del intervalo de confianza para la medida combinada de resultado final? Las respuestas a estas preguntas configuran un marco general para combinar los resultados procedentes de varios estudios. De hecho, el meta-análisis tiene una analogía directa con la combinación de los resultados en un estudio multicéntrico, donde también están presentes dificultades tales como las diferencias de protocolos y de poblaciones estudiadas, aunque estos problemas suelen ser mucho más complejos en el meta-análisis.

Las variables relacionadas con las características generales de los pacientes así como con la seguridad de la vacuna utilizadas en estos estudios fueron recogidas de igual manera, ya que las

misma fueron diseñadas, coordinadas y dirigidas por el mismo Centro Promotor, y por el mismo equipo multidisciplinario de investigadores promotores y clínicos así como fueron monitoreadas por el mismo equipo de monitores, como parte de las Buenas Prácticas Clínicas que se deben cumplir en estos tipos de investigaciones.

3. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

La metodología estadística empleada se corresponde como idea general con lineamientos internacionales establecidos para el análisis estadístico de los Ensayos Clínicos, ver ICH Tópico E9 (1996). Muchas de las variables medidas son eminentemente cuantitativas.

El análisis estadístico realizado comprendió las etapas siguientes:

1. Uso de técnicas para comprobar la homogeneidad de los grupos de tratamiento con respecto a las variables iniciales como Pruebas Chi cuadrado Baille et al. (1988) y Análisis de Varianza (ANOVA paramétrico o no paramétrico de Kruskal –Wallis Johnson-Wicherin (1998) para el chequeo de la hipótesis estadística necesaria para establecer el modelo adecuado para realizar comparaciones de las diferencias entre grupos.
2. Técnicas de imputación para resolver la pérdida de información por datos faltantes, vea Ardilly (1994) para una discusión elemental del problema.
3. Uso de modelos lineales mixtos para datos longitudinales para hacer comparaciones de la evolución de los parámetros de laboratorio en el tiempo, así como la influencia de los factores pronósticos en dicha evolución. Vea Molenberghs (1996) para una amplia discusión de éstos.
4. Técnicas del análisis de datos para describir las variables de interés y establecer las posibles regularidades de éstos, consulte Encyclopedia of Biostatistics (1998) para una detallada discusión sobre los métodos y modelos más populares en la medicina.

Estas etapas fueron seguidas en el análisis de los datos obtenidos.

3.1 Análisis de Homogeneidad entre los tratamientos

Para comprobar la efectividad de la aleatorización de la asignación de los pacientes a cada grupo de tratamiento se chequearon las variables de pronóstico que pueden influir en la respuesta de los pacientes. Estas fueron sexo, estadio de la enfermedad y estado general.

Tabla 3.1 Distribución de Sexo por Grupo de Tratamiento. Prueba Chi-Cuadrado $p = 0.455$

Sexo	TT Alum 50mg	P64 Alum 50mg	P64 Mont 50mg	P64 Alum 71mg	P64 Alum 142mg	P64 Mont 200mg	Control	Total
Másculino	3 (42.9%)	25 (71.4%)	53 (76.8%)	16 (76.2%)	18 (85.7%)	19 (70.4%)	29 (72.5%)	163 (74.1%)
Femenino	4 (57.1%)	10 (28.6%)	16 (23.2%)	5 (23.8%)	3 (14.3%)	8 (29.6%)	11 (27.5%)	57 (25.9%)
Total	7	35	69	21	21	27	40	220

Tabla 3.2 Distribución de Estadio por Grupo de Tratamiento. Prueba Chi-Cuadrado $p = 0.341$

Estadio	TT Alum 50mg	P64 Alum 50mg	P64 Mont 50mg	P64 Alum 71mg	P64 Alum 142mg	P64 Mont 200mg	Control	Total
III	1 (14.3%)	16 (47.1%)	41 (60.3%)	11 (55.0%)	11 (52.4%)	13 (61.9%)	21 (52.5%)	114 (54.0%)
IV	6 (85.7%)	18 (52.9%)	27 (39.7%)	9 (45.0%)	10 (47.6%)	8 (38.1%)	19 (47.5%)	97 (46.0%)
Total	7	34	68	20	21	21	40	211

Tabla 3.3 Distribución de Estado por Grupo de Tratamiento. Prueba Chi-Cuadrado $p = 0.000$

Estado	P64 Alum 50mg	P64 Mont 50mg	P64 Alum 71mg	P64 Alum 142mg	P64 Mont 200mg	Control	Total
0	2 (6.7%)	13 (19.1%)	3 (14.3%)	3 (14.3%)		7 (18.4%)	28 (14.1%)
1	17 (56.7%)	41 (60.3%)	17 (81.0%)	13 (61.9%)		26 (68.4%)	114 (57.3%)
2	10 (33.3%)	13 (19.1%)	1 (4.8%)	4 (19.0%)	21 (100.0%)	5 (13.2%)	54 (27.1%)
3	1 (3.3%)	1 (1.5%)		1 (4.8%)			3 (1.5%)
Total	30	68	21	21	21	38	199

Otros resultados descriptivos de los pacientes son brindados en la Tabla 3.4, donde se caracterizan la edad de los pacientes evaluados en el experimento, así como los valores iniciales de los parámetros de laboratorio. Las comparaciones estadísticas realizadas consideraron que los pacientes en cada grupo constituían una muestra aleatoria. Las pruebas realizadas permitieron establecer la diferencia entre las medias de los grupos utilizando el clásico ANOVA no paramétrico Kruskal-Wallis.

A pesar de que la aleatorización de la asignación a los tratamientos en cada ensayo cumplió con la esperada homogeneidad de las características iniciales cuando unimos todos los ensayos los grupos quedaron no balanceados y por ende sus propiedades iniciales también se vieron afectadas por este desbalance.

3.2 Análisis y tratamiento de los datos faltantes

Al tener un dato faltante parece lo más natural sustituir el valor desconocido de la variable por la de una respuesta conocida. Un modelo sugiere considerar que hay una probabilidad de respuesta para cada individuo. Los individuos similares poseen una distribución parecida. Por ello se recomienda sustituir cada no-respuesta por la media de los correspondientes con su misma distribución o con una muy similar. Otro modelo considera que hay un mecanismo de respuesta homogénea. La determinación de la respuesta se lleva a cabo al considerar que hay un comportamiento que es seguido por individuos similares. Así la respuesta Z_u de cada paciente u puede ser relacionada con un vector de variables auxiliares conocidas X_u . Entonces el dato faltante Z^* se relaciona con un X^* que se conoce. X^* es determinada por un individuo similar (con un mecanismo de respuesta que se espera sea caracterizado por ese vector). El problema es fijar un modelo g tal que

Tabla 3.4. Medias \pm desviaciones estándar de la Edad y los parámetros de laboratorio inicial por Grupo de Tratamiento. Prueba Kruskal-Wallis

Grupo de Tratamiento	Edad	Hemoglobina	Leucocitos	Plaquetas	TGP	TGO	FA	Creatinina
TT Alum 50mg	61.14 \pm 9.92	11.37 \pm .97	9.61 \pm 4.11	338.00 \pm 87.42	6.36 \pm 3.62	4.01 \pm 2.87	265.17 \pm 154.78	73.86 \pm 23.23
P64 Alum 50mg	58.77 \pm 9.74	11.73 \pm 1.74	9.08 \pm 2.95	307.30 \pm 73.34	6.83 \pm 5.16	6.80 \pm 6.14	231.19 \pm 188.36	87.69 \pm 16.88
P64 Mont 50mg	59.06 \pm 9.78	11.68 \pm 1.64	7.93 \pm 2.97	251.49 \pm 69.85	6.47 \pm 4.88	6.40 \pm 4.50	193.49 \pm 133.69	93.35 \pm 21.83
P64 Alum 71mg	56.14 \pm 10.15	11.49 \pm 1.19	7.74 \pm 2.27	275.42 \pm 104.64	8.72 \pm 5.61	9.94 \pm 6.15	199.06 \pm 66.54	99.01 \pm 25.20
P64 Alum 142mg	57.62 \pm 6.63	11.43 \pm 1.38	7.99 \pm 2.89	223.06 \pm 69.33	9.19 \pm 5.52	10.03 \pm 6.98	146.84 \pm 78.80	106.50 \pm 29.15
P64 Mont 200mg	56.15 \pm 8.99	12.20 \pm 1.43	9.38 \pm 5.04	376.85 \pm 145.30	6.35 \pm 4.68	9.83 \pm 6.16	292.17 \pm 142.65	82.46 \pm 19.52
Control	54.08 \pm 9.44	10.59 \pm 1.34	7.58 \pm 2.42	235.76 \pm 85.67	8.80 \pm 5.26	7.85 \pm 6.15	158.02 \pm 109.80	94.84 \pm 28.71
Total	57.40 \pm 9.49	11.51 \pm 1.56	8.28 \pm 3.24	276.75 \pm 101.54	7.40 \pm 5.12	7.77 \pm 5.83	201.75 \pm 138.20	92.37 \pm 24.15
P	0.196	0.001	0.259	0.000	0.128	0.037	0.025	0.002

$$Z^* = g(X^*) + e^*$$

siendo e^* un error aleatorio que idealmente tiene esperanza nula y varianza fija pequeña. En la práctica X^* es un vector de variables cualitativas y cuantitativas. En nuestro caso estas se fijan a partir de las características del no correspondiente dentro de su grupo (tratamiento) respecto a otros pacientes que responden y se espera tengan una respuesta similar a la de él.

El número de los datos faltantes a medida que avanzaba el estudio se elevó debido a la esperanza de vida de los pacientes con cáncer de pulmón avanzado. El grupo con mayor número de ellos no representó un por ciento significativamente mayor que el obtenido por los demás. Es de apuntar que no se pudo detectar ningún patrón. Las Tabla 3.5-3.8 reportan los resultados del número de faltantes durante el estudio.

Para resolver la falta de datos por no-respuesta se consideraron varias técnicas de imputación. El patrón de no-respuesta fue muy diverso. En la Tabla 3.9 se representan algunas de las combinaciones más frecuentes.

Tabla 3.5 Cantidad de datos faltantes en Hemoglobina y Leucocitos a través del tiempo.

Grupos	Hemoglobina							
	0	15	30	60	90	120	150	180
TT A 50mg	0		1	3				
P64 A 50mg	2	11	7	11	19	23	25	25
P64 M 50mg	6	21	15	25	42	46	47	51
P64 A 71mg	1	10	7	11	12	12	17	16
P64 A 142mg	1	5	6	10	11	12	14	16
P64 M 200mg	1	5	16	17	17	20	21	22
Control	3	29	23	29	29	35	36	37
Total	14	82	77	107	132	159	167	178

0	Leucocitos							
	15	30	60	90	120	150	180	
0		1	3					
2	11	6	11	19	23	25	25	
2	19	10	20	39	44	46	52	
0	8	7	10	11	11	16	14	
2	6	5	9	10	11	14	15	
0	4	14	17	18	19	21	22	
3	29	23	29	30	35	36	37	
9	78	68	100	129	154	164	176	

Tabla 3.6 Cantidad de datos faltantes en Plaquetas y TGP a través del tiempo.

Grupos	Plaquetas							
	0	15	30	60	90	120	150	180
TT A 50mg	0		1	3				
P64 A 50mg	2	11	8	12	20	23	25	25
P64 M 50mg	6	22	16	21	42	45	46	53
P64 A 71mg	2	10	7	10	12	11	16	14
P64 A 142mg	3	5	7	11	10	12	14	15
P64 M 200mg	1	4	15	16	17	20	21	22
Control	2	29	23	29	29	35	36	37
Total	16	82	79	103	132	157	166	178

0	TGP							
	15	30	60	90	120	150	180	
0		1	3					
4	12	10	14	19	25	26	25	
10	24	13	27	41	44	47	53	
0	10	6	9	14	14	16	15	
3	7	9	11	11	13	17	15	
1	7	16	17	18	20	22	22	
6	30	24	30	30	35	36	37	
24	91	81	112	137	163	174	181	

Tabla 3.7 Cantidad de datos faltantes en TGO y FA a través del tiempo.

Grupos	TGO							
	0	15	30	60	90	120	150	180
TT A 50mg	0		1	3				
P64 A 50mg	4	11	6	15	19	25	27	26
P64 M 50mg	12	27	16	26	41	45	50	54
P64 A 71mg	2	9	8	9	12	11	17	16
P64 A 142mg	5	7	8	10	11	12	16	15
P64 M 200mg	2	4	19	18	19	19	21	22
Control	9	31	26	33	30	35	36	37
Total	34	90	86	115	136	158	173	185

0	Fosfatasa Alcalina							
	15	30	60	90	120	150	180	
0		1	3					
9	16	9	15	20	26	28	27	
25	34	30	38	52	53	56	55	
8	12	10	11	16	15	17	18	
4	7	9	10	13	14	15	15	
16	22	23	23	24	25	27	26	
18	36	30	32	36	38	37	39	
80	128	114	133	170	187	189	195	

Tabla 3.8 Cantidad de datos faltantes en Creatinina a través del tiempo.

Grupos	0	15	30	60	90	120	150	180
TT A 50mg	0		1	3				
P64 A 50mg	1	11	9	14	18	23	25	25
P64 M 50mg	6	20	11	23	38	44	49	51
P64 A 71mg	1	10	6	8	12	10	16	14
P64 A 142mg	2	6	7	9	10	10	14	14
P64 M 200mg	1	4	15	16	17	20	21	22
Control	2	29	23	29	28	35	36	37
Total	13	81	74	103	124	153	170	177

Se consideró que la ocurrencia de datos faltantes era generada por un mecanismo equivalente al muestreo simple aleatorio. Un paciente fue considerado evaluable si tenía al menos dos evaluaciones de las programadas y el número de las observaciones faltantes consecutivas no era mayor que 3. La estrategia de imputación de los datos faltantes dependió del patrón observado. A partir de lo planteado en Mohlenberghs (1996) y Blandraums-Beeker (2001) utilizamos la siguiente metodología.

Tabla 3.9 Patrones de datos faltantes durante el estudio.

X = Dato observado, • = Dato faltante

Casos	0	15	30	60	90	120	150	180
1	x	•	•	X	x	x	x	x
2	x	•	x	•	x	•	x	x
3	x	X	•	•	•	x	x	x
4	x	X	•	•	x	•	•	•
5	•	•	•	•	•	•	•	•

Casos 1 y 2: El dato faltante es sustituido por la media de las observaciones adyacentes a éste.

Caso 3. El dato faltante no fue sustituido.

Caso 4. Los dos primeros faltantes son sustituidos por la media de los puntos adyacentes y el último por el

valor de la última observación.

Caso 5. No es evaluable.

3.3 Análisis de los parámetros de laboratorio clínico

Los ensayos fueron realizados en 6 de las 14 provincias del país (Pinar del Río, Ciudad de la Habana, Villa Clara, Camaguey, Holguín y Santiago de Cuba), con la participación de 9 sitios de investigación (III Congresos, CIMEQ, INOR, Hermanos Almeijeiras, Benéfico Jurídico, Celestino Hernández Robao, María Curi, Vladimir Ilich Lenin, Saturnino Lora). Los datos fueron recogidos en el Cuaderno de Recogida de Datos (CRD) confeccionado al efecto. La entrega y recogida del CRD se realizó a través del Centro Nacional de Coordinador de Ensayos Clínicos (CENCEC). El costo de toda la operación de monitoreo del ensayo fue alto dada la naturaleza de la investigación.

Para medir la seguridad de la vacuna se evaluaron los parámetros de laboratorio clínico: hematológicos y hemoquímicos de acuerdo a las unidades de medida establecidas en los protocolos. Además se evaluaron la aparición de eventos adversos conocidos y desconocidos, y su grado de intensidad.

Para medir la **respuesta hematológica** se consideraron diversos parámetros medidos en cada individuo y su valor en el grupo, a partir de un total o un promedio caracterizan el comportamiento del tratamiento. Esto son los siguientes:

1. Hemoglobina
2. Leucocitos
3. Plaquetas

Para medir la **respuesta hemoquímica** se consideraron diversos parámetros medidos en cada individuo y su valor en el grupo, a partir de un total o un promedio caracterizan el comportamiento del tratamiento. Esto son los siguientes:

Para evaluar la **función hepática**

1. TGP
2. TGO
3. Fosfatasa Alcalina

Para evaluar la **función renal**

4. Creatinina

Para evaluar la influencia de la vacuna en los parámetros de laboratorio clínico se analizaron modelos lineales generales de efectos mixtos considerando los diferentes parámetros como el término independiente, el ensayo y el hospital como efecto fijo y el grupo como efecto aleatorio y los factores pronósticos edad, sexo, estadio y estado como covariables.

Modelo Completo

$$Y_{ij} = \alpha_j + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_5 X_5 + \beta_6 X_6 + \beta_7 X_7 + \beta_8 t_{ij} + (\beta_{18} X_1 + \beta_{28} X_2 + \beta_{38} X_3 + \beta_{48} X_4 + \beta_{58} X_5 + \beta_{68} X_6 + \beta_{78} X_7) \cdot t_{ij}$$

donde Y_{ij} (examen de laboratorio), X_1 (ensayo), X_2 (hospital), X_3 (grupo), X_4 (edad), X_5 (sexo), X_6 (estadio), X_7 (estado) y t_{ij} (tiempo), además de las interacciones con el tiempo de cada variable.

Para cada parámetro de laboratorio se utilizó el método de selección de modelos hacia atrás comenzando por un modelo completo como el anterior hasta llegar a los 7 modelos reducidos siguientes:

Modelos Reducidos

$$Y_{ij} = \alpha_j + \beta_1 X_1 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_7 X_7 + \beta_8 t_{ij} + (\beta_{18} X_1 + \beta_{78} X_7) \cdot t_{ij} \quad \text{para Hemoglobina}$$

$$Y_{ij} = \alpha_j + \beta_1 X_1 + \beta_3 X_3 + \beta_8 t_{ij} \quad \text{para Leucocitos}$$

$$Y_{ij} = \alpha_j + \beta_1 X_1 + \beta_7 X_7 + \beta_8 t_{ij} + (\beta_{18} X_1 + \beta_{38} X_3 + \beta_{48} X_4 + \beta_{78} X_7) \cdot t_{ij} \quad \text{para Plaquetas}$$

$$Y_{ij} = \alpha_j + \beta_1 X_1 + \beta_3 X_3 + \beta_8 t_{ij} \quad \text{para TGP}$$

$$Y_{ij} = \alpha_j + \beta_1 X_1 + \beta_8 t_{ij} + (\beta_{18} X_1) \cdot t_{ij} \quad \text{para TGO}$$

$$Y_{ij} = \alpha_j + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_6 X_6 + \beta_7 X_7 + \beta_8 t_{ij} + (\beta_{18} X_1) \cdot t_{ij} \quad \text{para Fosfatasa Alcalina}$$

$$Y_{ij} = \alpha_j + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_5 X_5 + \beta_8 t_{ij} \quad \text{para Creatinina}$$

Los resultados de la estimación de los coeficientes de los diferentes modelos reducidos aparecen a continuación:

Tabla 3.10 Estimación de los Coeficientes del Modelo para Hemoglobina

Parameter	Standard		
	Estimate	Error	t Value Pr > t
Intercept	10.62047179	1.02785417	10.33
ENSAYO	-0.76816564	0.14303820	-5.37
GRUPO	-0.25954095	0.08837606	-2.94
EDAD	0.03567796	0.01248120	2.86
ESTADO	0.68895670	0.28684891	2.40
TIEMPO	-0.03965284	0.00725248	-5.47
ENSAYO*TIEMPO	0.00231338	0.00133017	1.74 0.0822
ESTADO*TIEMPO	-0.00954324	0.00290551	-3.28 0.0010

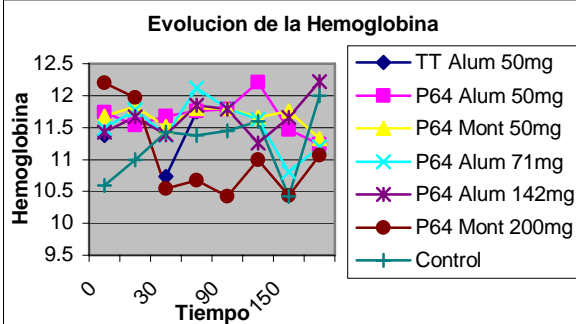


Tabla 3.11 Estimación de los Coeficientes del Modelo para Leucocitos

Parameter	Standard		
	Estimate	Error	t Value Pr > t
Intercept	9.451224055	0.35029174	26.98
ENSAYO	-0.277394695	0.08604746	-3.22
GRUPO	-0.367087126	0.07411678	-4.95
TIEMPO	-0.028534005	0.00172867	-16.51

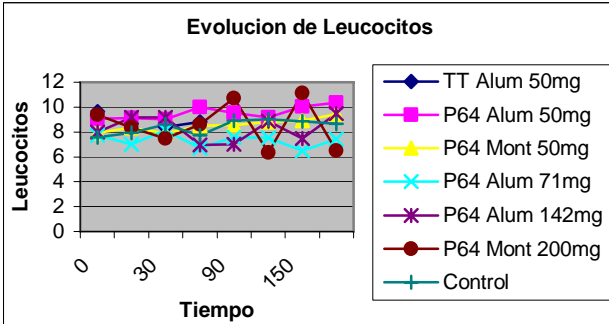


Tabla 3.12 Estimación de los Coeficientes del Modelo para Plaqueta

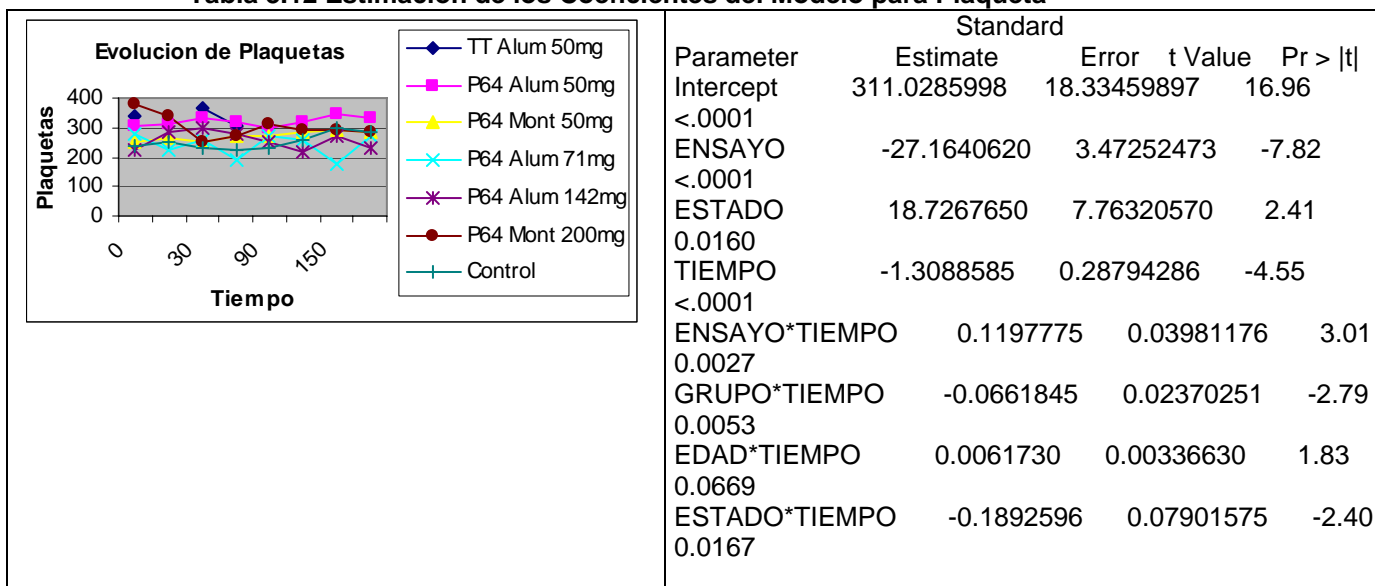


Tabla 3.13 Estimación de los Coeficientes del Modelo para TGP

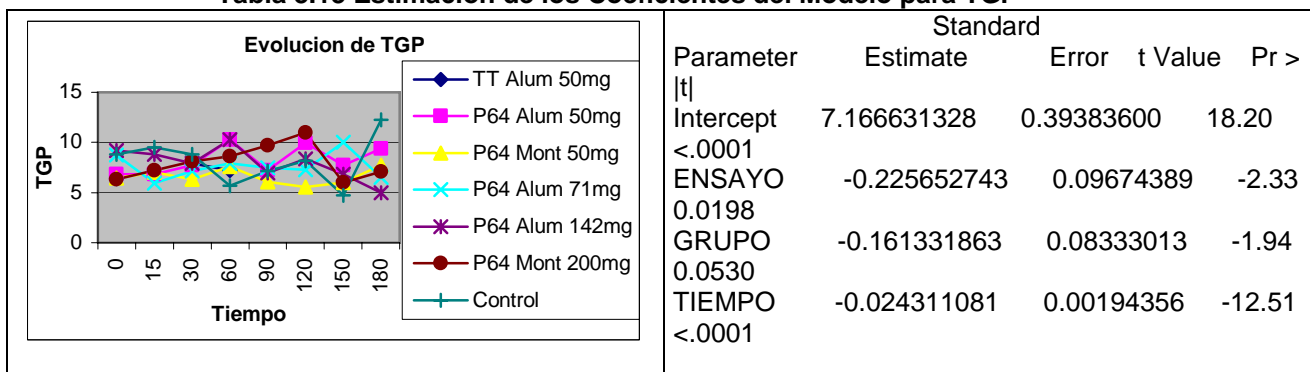
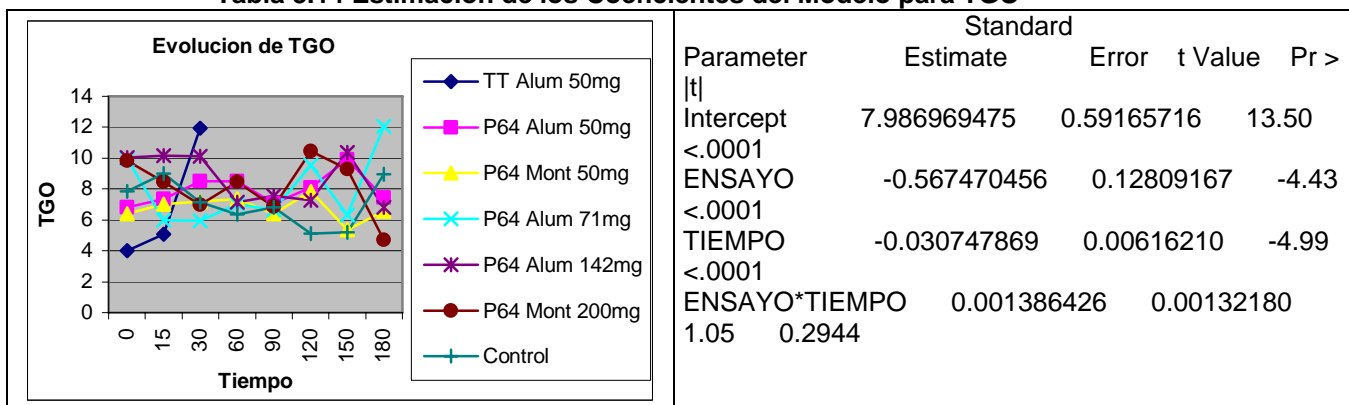


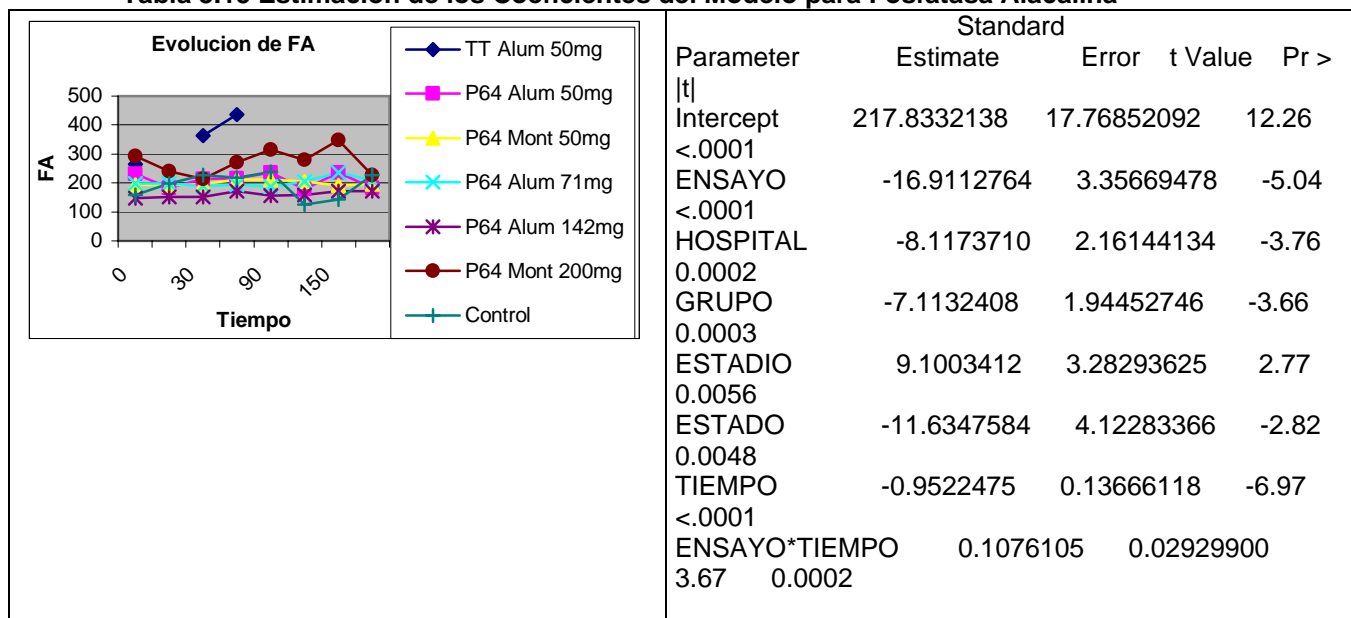
Tabla 3.14 Estimación de los Coeficientes del Modelo para TGO



Como se observa en la Tablas 3.10-3.16 en las variables hemoglobina, leucocitos, TGP, Fosfatasa Alcalina y Creatinina influyen el grupo y el tiempo de manera independiente, su interacción no influye en las fluctuaciones observadas. En las variables plaqueta y TGO influye el ensayo y el tiempo de manera independiente y además de su interacción.

En cuanto a la influencia de los factores pronósticos se observa que la edad influye en hemoglobina y creatinina de manera independiente, y en plaqueta en su interacción con el tiempo. El estado del paciente influye en la hemoglobina, plaqueta y fosfatasa alcalina, el estadio solo influye sobre la fosfatasa alcalina y el sexo solo influye sobre la creatinina

Tabla 3.15 Estimación de los Coeficientes del Modelo para Fosfatasa Alcalina



3.4 Análisis de los eventos adversos

Para evaluar la aparición de eventos adversos se crearon tablas de contingencia que resumen los eventos adversos más frecuentemente aparecidos separado ya sean ligeros, moderados, severos o muy severos, debido a la importancia de los mismos a la hora de evaluar la seguridad de la vacuna terapéutica.

Como se observa los eventos adversos más frecuentes fueron en su mayoría ligeros y moderados. Los eventos adversos severos y muy severos fueron poco frecuente y los mismos no estuvieron relacionados con la administración de la vacuna terapéutica en evaluación, por ser del grupo control que no recibieron la vacuna o por la relación de causalidad.

Por otra parte la mayoría de los eventos adversos severos o muy severos fueron del adyuvante Montanide a las dosis de 50 y 200 mg, y con menos frecuencia con el adyuvante Alumina en las dosis 71 y 142 mg. No se presentó ningún evento adverso severo o muy severo para el adyuvante Alumina en la dosis 50 mg.

Tabla 3.16 Estimación de los Coeficientes del Modelo para Creatinina

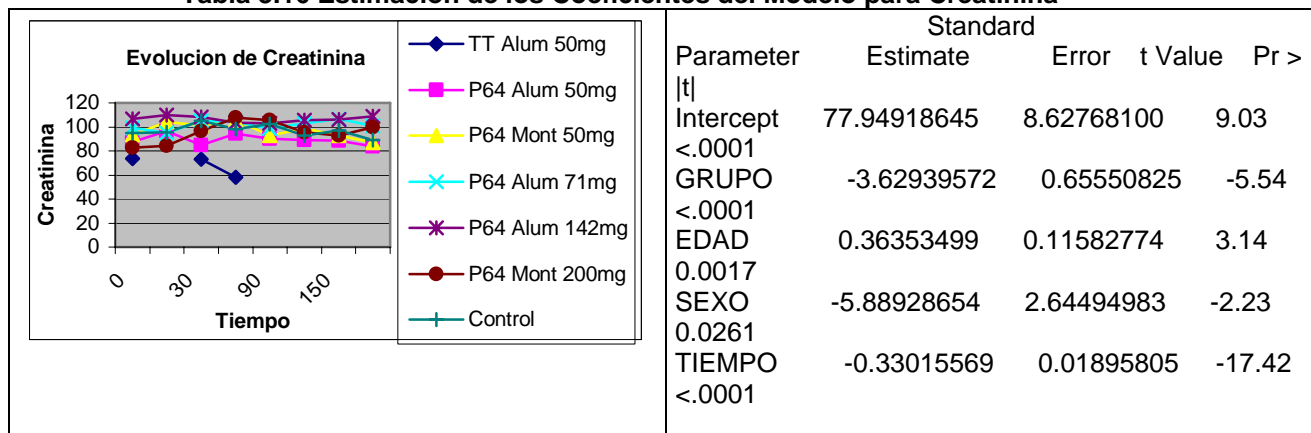


Tabla 3.17 Eventos Adversos más frecuentes

Evento Adverso	TT Alum 50mg	P64 Alum 50mg	P64 Mont 50mg	P64 Alum 71mg	P64 Alum 142mg	P64 Mont 200mg	Control	Total
Escalofríos*	1L	9(4L+5M)	11(8L+2M+1S)	10(3L+7M)	8(2L+6M)	15(4L+11M)		53
Temblores*		5(3L+2M)	9(6L+2M+1S)	15(3L+11M+1MS)	12(3L+9M)	11(3L+8M)		52
Disnea*		3(1L+2M)	15(5L+8M+2S)	4M	6(4L+2M)	8(4L+2M+1MS+1S)	9(6L+1M+2S)	45
Nauseas		2(1L+1M)	11(10L+1M)	10(7L+3M)	9(6L+3M)	7(4L+3M)	3(2L+1M)	42
Fiebre*		4(1L+3M)	14(12L+1M+1S)	8(2L+6M)	8(3L+5M)	4(1L+3M)	2M	40
Cefalea		5(3L+2M)	15(12L+3M)	4(3L+1M)	8(7L+1M)	3(2L+1M)	4(3L+1M)	39
Tos*			12(8L+3M+1S)	7(4L+2M+1MS)	6(4L+1M+1S)	4(2L+2M)	8(5L+3M)	37
Anorexia*			13(12L+1S)	8L	8L	1L	6(5L+1S)	36
Vómitos		2L	7(5L+2M)	8(5L+3M)	9(5L+4M)	6(3L+3M)	1L	33
Dolor		3(2L+1M)	3M	8(2L+5M+1S)	5(3L+2M)	4(2L+2M)	3(1L+2M)	26
Dolor Sitio Inyección		3L	7L	4(3L+1M)	4(1L+3M)	3(2L+1M)		21
Dolor Torácico*			10(4L+5M+1S)	3(1L+2M)		1L	7(3L+2M+2S)	21
Astenia*		1L	5(4L+1S)	4L	3L		6(3L+2M+1S)	19
Hipertensión		2(1L+1M)	1M	2(1L+1M)	7M	3(1L+2M)		15
Decaimiento		1M	5L	2(1L+1M)	2L	2L		12
Malestar General*		1M	3(1L+2M)	1L	1L	3(1L+1M+1S)	2(1L+1S)	11
Anemia*		2M	5(3M+2S)		1M	2M		10
Dolor HT Izquierdo			3(2L+1M)	4(1L+3M)	1M		1M	9
Expectoración*		1L	3(2L+1M)	2(1L+1MS)			3L	9
Artralgia			5(4L+1M)	1L		2(1L+1M)		8
Eritema	6(4L+2M)	2L						8
Constipación*			2L	2M	1M	1M	2(1L+1S)	8
Calambres			2L	1M	3L			6
Calor Cara			1L	2(1L+1M)	3L			6
Disfonía			1M	1L	3L		1M	6
Hipotensión			3L	1L	1L	1L		6
Rubor Facial		1L	1L		4L			6
Taquicardia			3L		2L	1L		6
Mareos*			1S	1L	2L	1L	1M	6
Dolor Lumbar				2L	2(1L+1M)	1M		5
Enrojecimiento Facial			2L	1L	1L	1L		5
FA Elevada			4(2L+2M)				1L	5
Induración	4M		1M					5
Mialgias		2(1L+1M)		1L	1L	1M		5
Perdida de Peso				2L	1L		2M	5
Sequedad Bucal		1L	2(1L+1M)		2L			5
Dolor HT Derecho*			1S	1M	2(1L+1M)		1L	5
Hepatomegalia*			3S				2S	5
Sudoración*			2L	2L		1M	1S	5

Leyenda L: Ligero, M: Moderado, S: Severo, MS: Muy Severo

* Eventos Adversos S o MS

4. CONCLUSIONES

En las variables hematológicas: hemoglobina y leucocitos y hemoquímicas: TGP, Fosfatasa Alcalina y Creatinina influyen el grupo y el tiempo de manera independiente, su interacción no influye en la evolución en el tiempo de las mismas. En la variable hematológica: plaqueta y hemoquímica: TGO influye el ensayo y el tiempo de manera independiente y su interacción.

En cuanto a la influencia de los factores pronósticos se demuestra que la edad influye en hemoglobina y creatinina de manera independiente, y en plaqueta en su interacción con el tiempo. El

estado del paciente influye en la hemoglobina, plaqueta y fosfatasa alcalina, el estadio solo influye sobre la fosfatasa alcalina y el sexo solo sobre la creatinina.

Los eventos adversos ligero y moderado más frecuentes fueron náuseas (19%), cefalea (17,65%), vómitos (14,93%), dolor en el sitio de la inyección (9,5%), hipertensión (6,79%) y decaimiento (5,43). Los eventos adversos escalofríos (23,98%), temblores (23,53%), disnea (20,36%), fiebre (18,1%), tos (16,74%), anorexia (16,29%), dolor (11,76%), dolor torácico (9,5%), astenia (8,6%), malestar general (4,98%) y anemia (4,52%), solo tuvieron uno o dos pacientes con grado de intensidad severo o muy severo, los cuales no estaban relacionados con la administración de la vacuna por ser del grupo control que no recibieron la vacuna o por la relación de causalidad. Por otro lado, la mayoría de los eventos adversos severos o muy severos fueron del adyuvante Montanide a las dosis de 50 y 200 mg, y con menos frecuencia con el adyuvante Alumina a las dosis 71 y 142 mg. No se presentó ningún evento adverso severo o muy severo para el adyuvante Alumina en la dosis 50 mg.

Se concluye que el preparado vacunal Factor de Crecimiento Epidérmico Recombinante EGFr en pacientes con cáncer de pulmón avanzados es seguro a pesar de la diversidad de eventos adversos reportados pues la mayoría tuvieron grados ligero y moderado y los pocos eventos con grado severo y muy severo no estuvieron relacionados con la vacuna. Por otro lado, se demostró que el efecto grupo no influye en la evolución de los parámetros de laboratorio en el tiempo.

Received May 2006
Revised September 2006

REFERENCIAS

ARDILLY, P. (1994): **Les Techniques de Sondage**, Edition Technip, Paris.

ARMITAGE, P. and T. COLTON (1998): **Encyclopedia of Biostatistics**, Wiley, New York.

BACALLAO J. (1998): El meta-análisis: es una modalidad cuantitativa de las revisiones sistemática en La literatura Biomédica. **Premio 1998 Provincial del Premio Anual del Ministerio de Salud Pública**, Cuba.

BAILLE, A.; PH. CAPÉRAÀ y B. VAN CUTSEM (1988): **Méthodes et Modèles en Statistique non Paramétrique**, Dunod, Paris.

BEGG C, CHO M, EASTWOOD S, HORTON R, MOTHER D, OLKIN I Y COLS. (1996) Improving the quality of reporting of randomized controlled trials: the CONSORT statement. **JAMA** 276, 637-639.

COLLANI, VON E. and K. DRAGER (2001): Binomial Distributions Handbook for Scientists and Engineers, **Birkhäuser**, Boston.

CRIVISQUI, E. (1997): "Análisis de Correspondencias Múltiples y Métodos de Clasificación", **Programme PRESTA, Université Libre de Bruxelles**. Bruselas.

GMEL, G. (2001): "Imputation of missing values in the case of a multiple item instrument measuring alcohol consumption". **Statistics in Medicine**. 20, 269-281.

GOOD, P.I. (2001): **Resampling Methods, a Practical Guide to Data Analysis**, Birkhäuser, Boston.

GRIFFITHS, C.E.M. and J.J. VOORHEES (1992): "Immunological mechanisms involved in Psoriasis", **Seminary on Immunopathology**, 13, 441-454.

HUNSBERGER, S.; D. MURRAY, C.E. DAVIES and R.R. FOBSITZ (2001): "Imputation strategies for missing data in school based multicentre study: Pathways study", **Statistics in Medicine**, 20, 305-316.

ICH TOPIC E9 (1998): Statistical Principles for Clinical Trials, **ICH Topic E9, September**.

JOHNSON, R.A. and D.W. WICHERIN (1998): **Applied Multivariate Statistical Analysis**, Prentice Hall, New Jersey.

L'ABBÉ KA, DETSKY AS, O'ROURKE K. (1998): El metanálisis en la investigación clínica. **Bol of Sanit Panam** ; 116:226-44.

LANDRAUM, M.B. and M.P. BELLER (2001): "A multiple imputation strategy for incomplete longitudinal data", **Statistics in Medicine** 20, 2761-2774.

LANG, T.A. and M. SECIC (1997): How to Report Statistics in Medicine: Annotated Guidelines for Authors Editors and Reviewers. **American Coll. of Physicians**, Philadelphia.

LAUPACIS, A.; D.L. SACKETT and R.S. ROBERTS (1988): "An assesment of clinically useful measures of the consequences of treatment", **N. England J. of Medicine**, 318, 1728-1733.

MOHLENBERGHS, G. (1996): **Longitudinal Data Analysis, Parts 1, 2 and 3**. Limburgs University Center, Limburgs.

SÁNCHEZ J, ATO M. (1989): Meta-análisis: una alternativa metodológica a las revisiones tradicionales de la investigación. En: **Arnau J, Carpennero H, editores. Manual de Psicología. I. Historia, Teoría y Método.**: Ed. Alambra, Madrid.

TOMÁSSONE, R.; E. LESQUOY y C. MILLIER (1983): La Régression: Nouveaux Regards sur une Ancienne Méthode Statistique, **Másson**, Paris.