

Lezioni Scuole di Specializzazione

METODOLOGIA DELLA RICERCA CLINICA

Prof. Enzo Ballone

METODOLOGIA DELLA RICERCA CLINICA

1. IL SIGNIFICATO DEL PROTOCOLLO

Il contenuto essenziale del protocollo

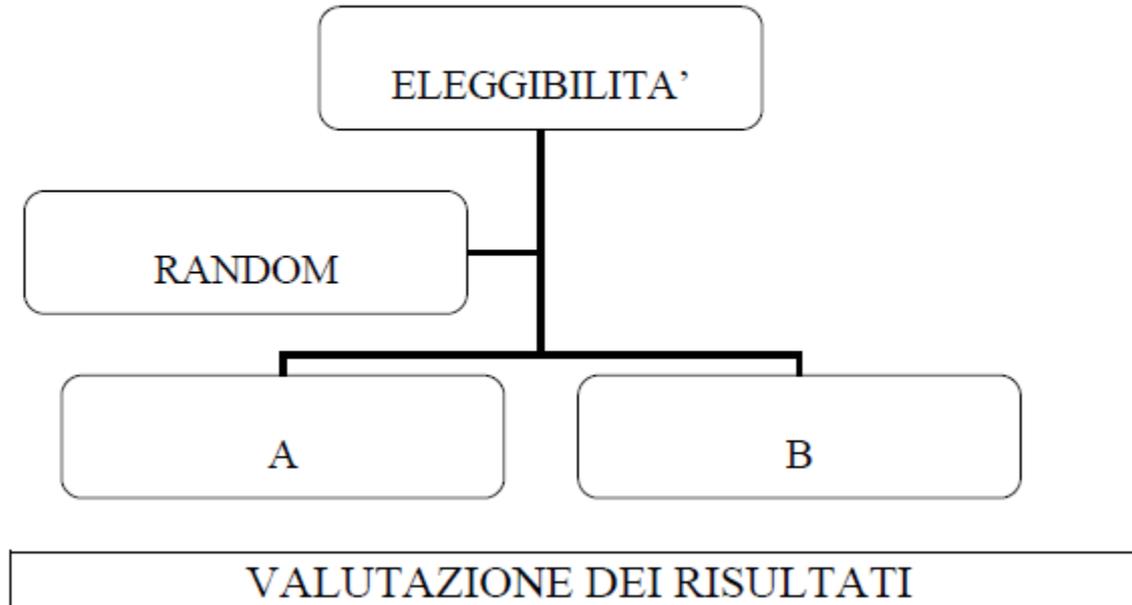
- Obiettivi
- Disegno dello studio
- Criteri di selezione pazienti
- Schemi di trattamento
- Registrazione e randomizzazione
- Dimensione del campione
- Monitoraggio del progresso
- Gestione schede e dati
- Deviazioni dal protocollo
- Metodi per l'analisi statistica

FASI DI UNA SPERIMENTAZIONE CLINICA

- **FASE 1: FARMACOLOGIA CLINICA E TOSSICITA'.**
 - Serve per stabilire la sicurezza del farmaco, il dosaggio, la farmacocinetica. Sono sufficienti 20-80 soggetti sani,
 - preferibilmente di sesso maschile.
- **FASE 2: RICERCA CLINICA PER GLI EFFETTI DEL TRATTAMENTO.**
 - Serve principalmente per studiare l'efficacia del farmaco (studi open, add-on etc). Sono sufficienti 100-200 pazienti.
- **FASE 3: STUDIO CLINICO CONTROLLATO (SCC o RCT).**
 - Dopo che il farmaco si è dimostrato essere ragionevolmente efficace (FASE 2), viene valutato attraverso
 - un confronto con un trattamento standard corrente oppure
 - con placebo. La numerosità varia a seconda dello studio.
- **FASE 4: SORVEGLIANZA POST-MARKETING.** Riguarda la valutazione del valore terapeutico e/o degli effetti dannosi del farmaco già in commercio (*farmacovigilanza*)

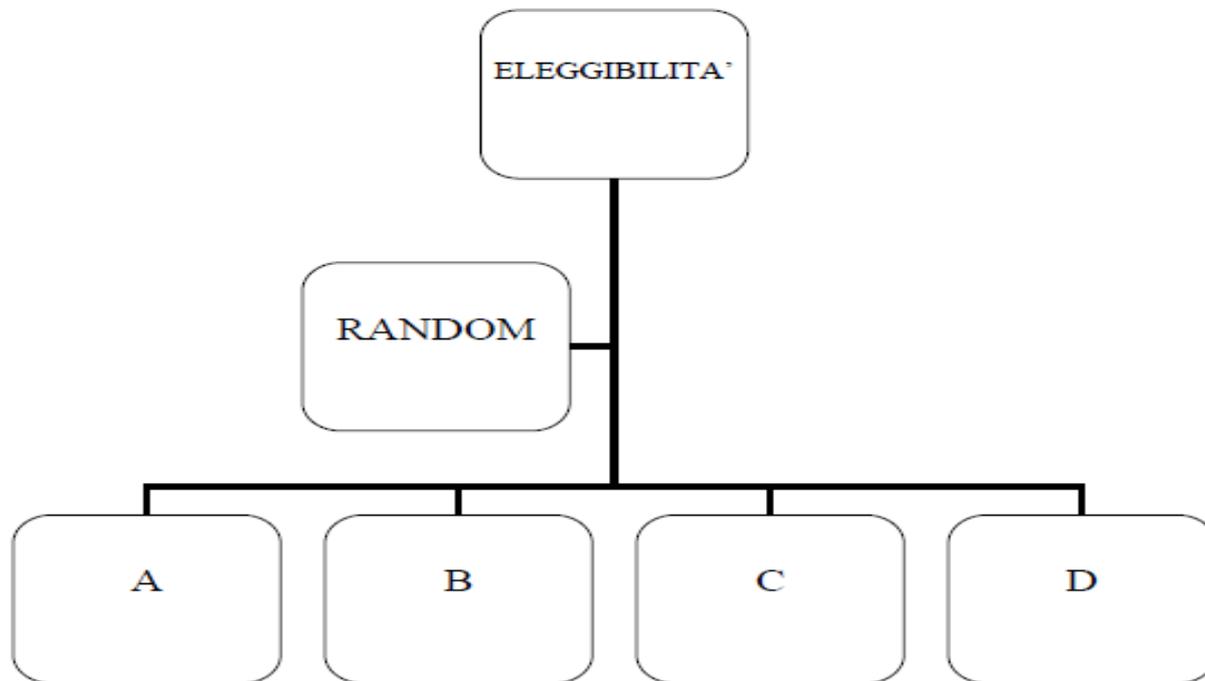
IL SIGNIFICATO DEL PROTOCOLLO

A) COMPARATIVO SEMPLICE (A 2 BRACCIA)

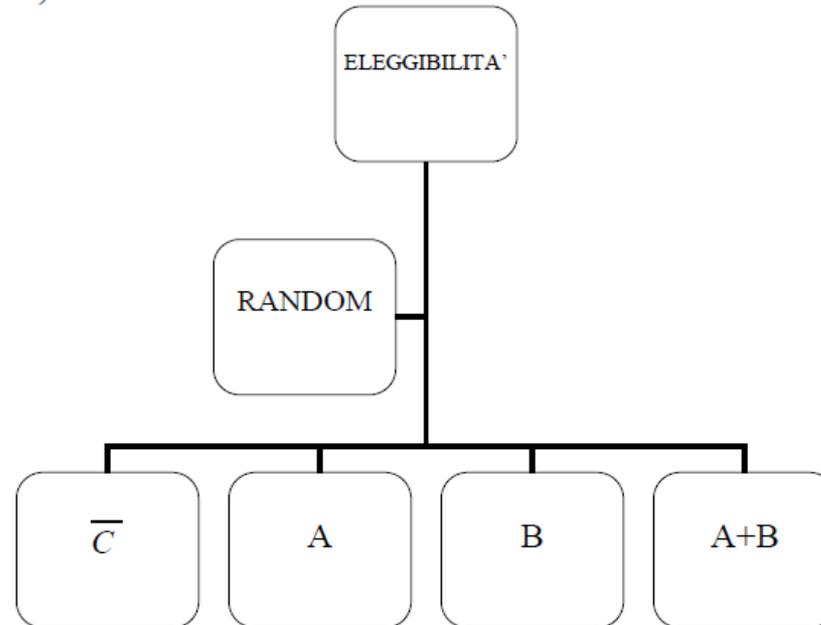


I DIVERSI TIPI DI DISEGNO (cont.)

B) COMPARATIVO A PIU' DI 2 BRACCIA



C) FATTORIALE



EFFETTO DI A → A+ (A+B) vs \bar{C} + B

EFFETTO DI B → B+ (A+B) vs \bar{C} + A

EFFETTO DI A+B → (A+B) vs SINGOLI TRATTAMENTI

QUANDO CONSIDERARE L'USO DI UN DISEGNO FATTORIALE

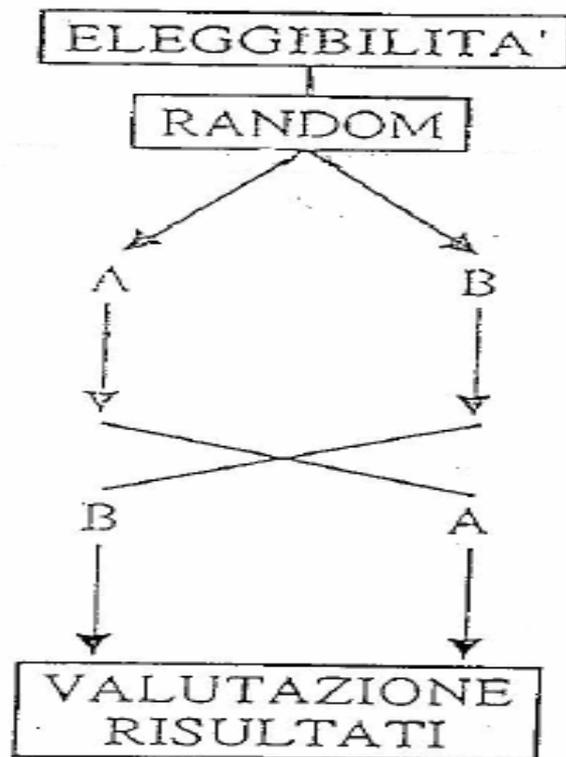
- Interesse reale a più di un trattamento
- I trattamenti possono essere somministrati contemporaneamente, non interferiscono cioè fra di loro e la tossicità additiva non è proibitiva
- I meccanismi d'azione dei trattamenti sono diversi
- Non sono previste serie interazioni fra i trattamenti

oppure

- Si è particolarmente interessati all'interazione (ma in questo caso sarà necessario un campione di dimensioni maggiori).

I DIVERSI TIPI DI DISEGNO (cont.)

d) Crossover



VANTAGGI DEL CROSS-OVER:

- **OGNI PAZIENTE E' CONTROLLO DI SE STESSO**
 - ELIMINAZIONE DI BIAS
 - RIDUZIONE DEL NO. DI PAZIENTI NECESSARI

SVANTAGGI:

- **RITIRO DEI PAZIENTI**
- **EVENTUALE INSTABILITA' DELLA MALATTIA (O DEI SEGNI E SINTOMI)**
- **EFFETTI DI PERIODO**
- **EFFETTI RESIDUI**

Le principali fonti di distorsione di uno studio sono tre

- Non comparabilità delle popolazioni dei soggetti trattati
- Non comparabilità degli effetti attribuiti al trattamento
- Non comparabilità delle osservazioni su cui basare il giudizio di efficacia

Per ognuna di queste fonti di errore esistono altrettante contromisure rappresentate rispettivamente da:

- Randomizzazione
- Placebo
- Blinding

ERRORI NELLA RICERCA CLINICA

2) studi non comparativi: ossia mancanti di un gruppo di confronto o di controllo:

- a) bisogna cercare il più possibile di organizzare ricerche di tipo comparativo, anche nell'analisi di casistiche trattate, con un gruppo di controllo e che sia adeguato in tutte le variabili in studio;
- b) che il gruppo di controllo sia costituito in modo valido, appropriato e costruito per randomizzazione;
- c) Evitare, quando è possibile, gli studi retrospettivi e preferire gli studi prospettici, di coorte o di follow-up (gli studi RCT lo sono)

3. **Sperimentazioni cliniche con il PLACEBO**, quale trattamento randomizzato, solo quando non c'è un trattamento già consolidato (tratt. di base). Se c'è va dato a tutti gli arruolati: poi 1 gruppo assume il placebo e l'altro il trattamento sperimentale;
4. **Mancata o errata randomizzazione**: va rispettata l'assegnazione randomizzata dei trattamenti; qualsiasi altro metodo per attribuire il trattamento ai soggetti da arruolare è poco scientifico

L'impiego di placebo nella sperimentazione tra dibattiti medico-legali ed etici

9. Qualora la sperimentazione clinica preveda l'arruolamento di soggetti alla prima diagnosi e la patologia in studio è lieve e i controlli di follow-up sono ravvicinati è giustificabile ed etico prevedere un braccio a placebo.

Inoltre l'impiego del placebo è utile nella valutazione sia dell'efficacia del trattamento , ma anche della tollerabilità e la tossicità .

Comunque il trattamento a placebo deve essere assegnato mediante randomizzazione

10. **Mancata o errata randomizzazione:** i campioni o i gruppi di controllo devono essere costituiti per randomizzazione, qualsiasi altro metodo è poco scientifico.

RANDOMIZZAZIONE

- . ASSISURA LA COMPARABILITA' DELLE POPOLAZIONI
- . RECLUTAMENTO DEL PAZIENTE
- . VERIFICA DELL'ELEGGIBILITA'
- . ACCETTAZIONE E RANDOMIZZAZIONE
- . CONSENSO DEL PAZIENTE
- . ENTRATA FORMALE NELLA RICERCA
- . ASSEGNAZIONE RANDOMIZZATA DEI TRATTAMENTI
- . DOCUMENTAZIONE
- . EFFICIENZA ED ATTENDIBILITA'
- . TIPI DI RANDOMIZZAZIONE:
 - semplice
 - blocchi a permutazione randomizzata

Un esempio di blocchi a permutazione randomizzata entro strati per una ricerca nel cancro primitivo della mammella (A = L-Pam, B = placebo)

Età:	< 50	≥ 50	< 50	≥ 50.
N. di linfonodi ascellari positivi	1-3	1-3	≥ 4	≥ 4
	B	B	A	B
	A	B	A	A
	B	A	B	A
	A	A	B	B
	A	A	B	A
	B	A	A	B
	A	B	B	B
	B	B	A	A
	A	B	B	B
	B	A	A	A
	B	B	B	A
	A	B	A	B
	A	A	B	A
	:	:	:	.

PRESENTAZIONE DEI RISULTATI

. RIDUZIONE ASSOLUTA DEL RISCHIO (RAR)

$$\text{RAR} = \text{Ic} - \text{It}$$

STUDIO SOLVID, ENALAPRIL vs PLACEBO

Ic 510 DECESSI SU 1284 (39.7%)

It 452 DECESSI SU 1285 (35.2%)

$$\text{RAR} = 39.7 - 35.2 = 4.5\% \text{ (95\% IC 0.8\% - 8.2\%)}$$

. RIDUZIONE ASSOLUTA DEL RISCHIO (RRR)

$$\text{RRR} = (\text{Ic} - \text{It}) / \text{Ic} \times 100$$

$$\text{NEL SOLVID } \text{RRR} = (39.7 - 35.2) / 39.7 \times 100 = 11.3\% \\ \text{(95\% IC 2\% - 21.6\%)}$$

. NUMERO NECESSARIO DA TRATTARE (NNT)

$$\text{NNT} = 1 / \text{RAR} \times 100$$

$$\text{NEL SOLVID } 1 / 4.5 \times 100 = 22 \text{ (95\% IC 12 - 125)}$$

ANALISI AD INTERIM

SCOPI

- . EVITARE CHE UN QUALSIASI PAZIENTE RICEVA NELLA SPERIMENTAZIONE UN TRATTAMENTO DI EFFICACIA PALESEMENTE INFERIORI.

- . EVITARE DI PROTRARRE NEL TEMPO UNO STUDIO CHE E' GIA' IN GRADO DI FORNIRE UNA RISPOSTA.

MA

UNA STIMA DI EFFICACIA BASATA SU UN CAMPIONE PIU' PICCOLO E' IN OGNI CASO MENO PRECISA.

ERRORI NELLA RICERCA CLINICA

7. **stima inappropriata della Sample Size**, ciò non permette di avere una buona probabilità di mettere in evidenza una reale differenza significativa tra i trattamenti in studio (bassa potenza dello studio).
7. **Tipologia di studi DI STUDI SPERIMENTALI**
 - a) studi **negativi**: ipotizzano l'equivalenza tra due trattamenti
 - b) studi di **non inferiorità**: che il trattamento sperimentale non sia inferiore al trattamento standard
 - c) studi **di superiorità**: che il trattamento A sia superiore al trattamento B
8. altri tipi di errore come: **l'uso improprio dei test statistici parametrici al posto dei NON PARAMETRICI**, specialmente se si lavora su **campioni di poche unità**.
9. oppure confronti multipli senza applicare la correzione del Bonferroni, oppure applicati **su piccoli campioni ($n < 30$ unità per ogni braccio)** etc

- **TIPOLOGIA DEGLI ERRORI:**
- DELLO STRUMENTO DI MISURA
- DI TIPO STATISTICO: Se la dimensione dei campioni è elevata si può avere fiducia (è quasi certo o molto probabile) dei risultati della sperimentazioni e l'errore che si commette tende a zero (il famoso P-value <0.0001) ;
- ma se è stata effettuata una sperimentazione o uno studio su campioni di pochissime unità, ci sarà un errore statistico elevatissimo e tantissima incertezza sul reale valore della ricerca;
- Ne segue che è necessario applicare la metodologia della ricerca in tutte le sue parti ed è molto importante stimare la **Sample Size** in modo appropriato che richiede, tra l'altro, di fissare a priori la quantità di errore (di primo e di secondo tipo) che si è disposti ad accettare;
- Le cause di errore nella rilevazione dei dati o delle informazioni sono:
- gli errori sistematici, casuali (Secondo la curva di Gauss) e grossolani che sono rispettivamente evitabili, inevitabili e eliminabili.

- **IL CALCOLO NUMERICO PER UN ESITO, UN RISULTATO, DI TIPO QUANTITATIVO**

Sono necessari quantificare i seguenti parametri:

**μ_1 : la risposta media prevista per il primo trattamento
(di solito il trattamento standard, il placebo, etc).**

**μ_2 : la risposta media prevista per il secondo
trattamento (di solito il trattamento sperimentale)
affinché lo si possa ritenere clinicamente
importante.**

**σ o DS (una misura della variabilità nota o stimabile
nella popolazione con media uguale a μ_1 Pop).**

Δ , α e β come sopra definiti.

PER UN ESITO, UN RISULTATO DI TIPO **QUANTITATIVO**

Si deve specificare la **grandezza dell'EFFETTO**, ossia quale cambiamento nella risposta media fra i due trattamenti si ritiene clinicamente importante da scoprire: ($\Delta = \mu_1 - \mu_2$) ad un predefinito **livello di significatività α** (al massimo = 0.05) **e β** (al massimo = 0.20).

Usando il test t di Student per campioni indipendenti
Vanno quantificati **A PRIORI** i seguenti parametri:

- μ_1 : la risposta media prevista per il primo trattamento (di solito il trattamento standard, il placebo, etc).
- μ_2 : la risposta media prevista per il secondo trattamento (di solito il **trattamento sperimentale**) affinché lo si possa ritenere clinicamente **RILEVANTE**
IL TRATTAMENTO SPERIMENTALE.
- σ o DS (una misura della variabilità nota o stimabile nella popolazione con media uguale a μ_1).
- **Δ , α e β** come sopra definiti.

CALCOLO NUMERICO della sample size

- **CALCOLO NUMERICO** Assumendo che il colesterolo totale medio nei soggetti trattati con A sia uguale a 240 mg/dl (μ_1) e che una nuova molecola B sia più efficace di A qualora, alla fine del trattamento si registri un livello medio pari a 220 mg/dl (μ_2).
- Sapendo che nella popolazione normale il livello medio di colesterolo è di $\mu=220 \pm 30$ e fissando $\alpha=0.05$ e $\beta=0.20$ (corrisponde una potenza dell'80%) si calcola la numerosità minima per ogni braccio:

Per il calcolo numerico si applica la seguente formula:

$$n = \frac{2\sigma^2}{(\mu_2 - \mu_1)^2} f(\alpha, \beta)$$

Sostituendo alla formula i valori dell'esempio si stima il valore minimo di n: numero di soggetti da arruolare per ogni braccio della sperimentazione

$$f(\alpha, \beta) = 8$$

$$n = \frac{2 * 30^2}{(220 - 240)^2} f(\alpha, \beta) = 37$$

IL CALCOLO NUMERICO

a) Esito di tipo qualitativo (successo/fallimento)

Sono necessari 4 parametri

P_1 = percentuale di successi con trattamento standard

P_2 = percentuale di successi con trattamento sperimentale

α = livello di significatività (o "falsi positivi" tollerati)

$1-\beta$ = grado di certezza che la differenza P_1-P_2 , se presente, verrà colta nello studio

5. IL CALCOLO NUMERICO (cont.)

Assumendo quindi

$$P_1 = 30\% \quad P_2 = 50\% \quad \alpha = 0.05 \quad \beta = 0.1$$

$$n = \frac{P_1 \times (100 - P_1) + P_2 \times (100 - P_2)}{(P_2 - P_1)^2} \times f(\alpha, \beta)$$

$$n = \frac{30 \times 70 + 50 \times 50}{(50 - 30)^2} \times 10.5 = 121 \text{ pazienti per braccio}$$

STUDIO DI COORTE

IN UNO STUDIO DI COORTE (LONGITUDINALE) 2 O PIU' GRUPPI DI PERSONE SANE, E CHE SI DIFFERENZIANO PER IL FATTO DI ESSERE ESPOSTI O NO AD UN POTENZIALE FATTORE DI RISCHIO PER LA MALATTIA IN STUDIO, SONO CONFRONTATI TRA LORO IN FUNZIONE DELLA DIVERSA INCIDENZA DELLA MALATTIA STESSA.

1) TASSO DI INCIDENZA

IL T. D. I. MISURA IL NUMERO DI NUOVI CASI DI MALATTIA CHE SI VERIFICANO IN UN DETERMINATO INTERVALLO DI TEMPO.

SI ESPRIME SEMPRE IN N/1000 o 100.000/ANNO.

$$I = \frac{E}{n \cdot t} \cdot 100'000$$

GLI STUDI OSSERVAZIONALI, LIMITANDOSI A
DESCRIVERE LA REALTA', UTILIZZANO UNA
LOGICA INDUTTIVA.

Esempio:

- a) Pazienti con colesterolo alto sviluppano l'infarto;
- b) Mario Rossi ha un'elevata colesterolemia;
- c) Mario Rossi svilupperà un infarto.

GLI STUDI SPERIMENTALI, INTRODUCENDO UNA
MODIFICAZIONE DELLA REALTA', VALUTANO LA
MODIFICAZIONE DELL'EFFETTO CON UNA
LOGICA DEDUTTIVA.

GLI STUDI SPERIMENTALI, INTRODUCENDO UNA
MODIFICAZIONE DELLA REALTA', VALUTANO LA
MODIFICAZIONE DELL'EFFETTO CON UNA
LOGICA DEDUTTIVA.

Esempio:

- a) Gli ipertesi hanno molti eventi CV;
- b) I farmaci antipertensivi riducono la PA;
- c) I farmaci antipertensivi riducono gli eventi cardiovascolari.

Esempio:

- a) Nel post-IMA molti pazienti muoiono per aritmia ventricolare;
- b) I farmaci antiaritmici riducono le aritmie;
- c) Gli antiaritmici migliorano la prognosi del post-IMA.

**LO STUDIO DESCRITTIVO OSSERVAZIONALE SI
LIMITA AD OSSERVARE LA REALTA' E, SENZA
MODIFICARLA, A TRARRE DELLE INFERENZE.
SI BASA QUINDI SULLA CONFERMA DELLA
RIPETIBILITA' DEI FENOMENI.**

**LO STUDIO SPERIMENTALE INTRODUCE UNA
MODIFICAZIONE PER OSSERVARE LE CONSEGUENZE
SULLA REALTA' CHE SARANNO UTILIZZATE PER
TESTARE LA VALIDITA' DI UN'IPOTESI.
SI BASA QUINDI SULLA "FALSIFICAZIONE" DELLE
IPOTESI.**