

Clinical Trials

Aspetti Metodologici

Cinzia Fattore
Valentina Franco

Clinical Trial Center
Fondazione C. Mondino

Approcci all'osservazione

- **Indagine retrospettiva:** confronto con l'esperienza del passato
- **Indagine trasversale:** fotografa la situazione dal momento della osservazione
- **Indagine prospettica:** partendo da una ipotesi, svolge le relative osservazioni nel tempo.
- Compara dati del presente con la realtà passata, non verificabile
- *Utile* per fotografare la situazione in un dato momento, non per valutare l'andamento di un fenomeno nel tempo
- *L'unica che consente di stabilire, almeno in via di probabilità, l'esistenza di un rapporto tra causa ed effetto*

Alla base di uno studio clinico vi è sempre una
IPOTESI

L'ipotesi che si intende saggiare deve essere:

- ***scientificamente fondata***
- ***ben definita***
- ***circostanziata***
- ***priva di ambiguità***

Good science  Good ethics

L'evoluzione nel tempo delle sperimentazioni cliniche: l'importanza del Metodo

Fino agli anni 30 → Trials non controllati

Anni 30-50 → Trials controllati non randomizzati

Anni 50-80 → Trials controllati randomizzati

Anni 80- → Mega trials, Meta-analisi, Review
sistematiche → **Evidence Based Medicine**

Evidence Based Medicine

La “forza” dell’evidenza in relazione al tipo di studi effettuati

Livello	Tipo di studio
1	Megatrial
2	Meta-analisi
3	Trial Clinico Randomizzato
4	Studi di coorte controllati
5	Studi caso-controllo
6	Serie di casi
7	Opinioni di esperti senza riferimenti ad un tipo di studio sopracitato

SPERIMENTAZIONE CLINICA CONTROLLATA

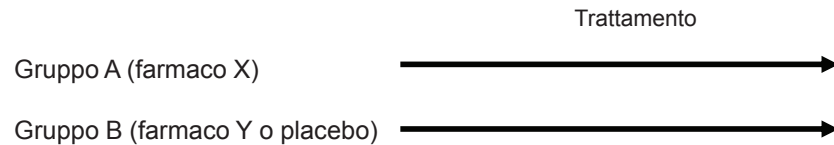
Meccanismo decisionale essenziale per il progresso terapeutico.

L’introduzione in terapia di un nuovo farmaco/trattamento deve basarsi su una **metodologia sperimentale rigorosa**, riproducibile, verificabile.

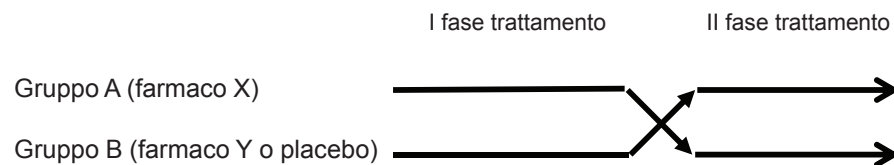
L’ **ESPERIMENTO** clinico: lo sperimentatore interviene attivamente a modificare una situazione esistente e va poi a **verificare** come la situazione è cambiata.

IL DISEGNO SPERIMENTALE: ottimizzazione della struttura dello studio

Gruppi paralleli: ciascuno dei quali assume un trattamento diverso



Cross-over: ciascun gruppo riceve entrambi i trattamenti



DISEGNO CROSS-OVER

- Il vantaggio di un disegno cross-over è quello di consentire un campione più limitato, in quanto si *sfruttano* maggiormente i pazienti arruolati e si diminuisce la variabilità (si confrontano nello stesso gruppo gli effetti del secondo trattamento rispetto al primo)
- Gli svantaggi sono l'applicabilità solo a trattamenti cronici, la possibilità che il primo trattamento influenzi il secondo (effetto carry-over), la complessità nella gestione e nell'analisi.
- Per evitare l'effetto carry-over sarebbe necessario un periodo di wash-out (no trattamento)

DISEGNO CROSS-OVER

VANTAGGI

- Minore variabilità di risposta
- Migliore utilizzo del campione (etica)
- Miglioramento nella potenza del test di significatività
- Molto utilizzato negli studi di farmacologia/farmacocinetica clinica nel volontario sano

SVANTAGGI

- Congruo periodo di wash-out
- Effetto carry-over

Sperimentazioni con controlli storici

- ✓ Tutti i pazienti eleggibili ricevono il trattamento sperimentale
- ✓ Si utilizzano come controlli pazienti osservati in precedenza e trattati con terapia tradizionale
- ✓ I dati dei controlli sono retrospettivi (cartelle cliniche)

Sperimentazioni con controlli storici: limiti

- ✓ Limiti di completezza e attendibilità delle cartelle cliniche
- ✓ Bias di risultati falsi positivi: i pazienti che ricevono il trattamento sperimentale si avvantaggiano di progressi diagnostici e terapeutici successivi al periodo di osservazione dei controlli

Controlled clinical trial

Nel termine “controllo” è implicito anche il concetto di tenere sotto controllo molteplici fattori che in un esperimento clinico contribuiscono a determinare o accrescere la variabilità della risposta, o ad introdurre errori sistematici (bias).

Nella stesura di un protocollo di ricerca va introdotta una serie di salvaguardie atte a minimizzare l'effetto di fattori che potrebbero confondere il risultato finale o diluire l'effetto cercato.

IL CONFRONTO

Ogni esperimento clinico implica un **confronto**, che deve aver luogo all'interno dello stesso studio

- Presenza di un **gruppo di controllo** (verificare il valore relativo della terapia)

Possibili motivi di sperimentazione non controllata

- Malattia con decorso prevedibile ad esito fatale
- Efficacia del nuovo trattamento drammaticamente evidente in osservazioni iniziali
- Assenza di trattamenti alternativi di confronto

Byar DP. NEJM 1990; 323: 1343

BIAS

Il “*bias*” (distorsione) è un *errore sistematico* che, introdotto consciamente o inconsciamente, *modifica una o più condizioni dell’esperimento, distorcendone il risultato.*

- *selection bias* (devo valutare l’associazione tra una patologia e determinati fattori di rischio e la conoscenza dell’esistenza di questi fattori determina l’arruolamento)
- *allocation bias* (assegnazione non casuale dei trattamenti ai pazienti)
- *detection bias* (la conoscenza del trattamento somministrato può modificare il giudizio dello sperimentatore)
- *contamination bias* (adottare misure di sostegno collaterale più impegnative nei pazienti ricevanti il trattamento che lo sperimentatore ritiene potenzialmente meno efficace)
- *reverse causality bias (errore di causalità invertita)*: è il risultato a determinare l’esposizione ad un nuovo trattamento (es. vengono assegnati ad un nuovo trattamento i pazienti che non hanno risposto alla terapia tradizionale. La casistica è formata solo da *non responders*, con una minore probabilità di dare risposte positive)

- *follow-up bias*: porta ad una distorsione nella selezione del campione che, al termine dello studio, ha caratteristiche diverse da quelle iniziali (occorre sempre registrare i motivi per cui un paziente esce dallo studio: casuali, inefficacia, scarsa tollerabilità)
- *observation bias* (negli studi policentrici)

- *publication bias* : è un errore di selezione, per cui tendono ad avere più possibilità di pubblicazione studi con risultati positivi. E' la principale fonte di errore da considerare quando si procede all'esecuzione di una meta-analisi.

STRUMENTI PER IL CONTROLLO DEI BIAS

- Randomizzazione

- Cecità

Randomizzazione

- È la assegnazione *casuale* dei trattamenti in studio ai pazienti arruolati
- *Ogni soggetto ha uguale probabilità* di ricevere ognuno dei trattamenti in studio e *l'assegnazione è indipendente* da qualunque fattore che possa di per sè influire sul risultato (allocation bias)
- *Randomizzazione ristretta* (suddividendo la casistica in gruppi di 4-10 pazienti e randomizzando in modo bilanciato i trattamenti all'interno di ogni gruppo)

Randomizzazione

- Generazione di numeri casuali mediante tavole apposite; programmi su supporti informatici
- Permette di ottenere **gruppi omogenei** tra di loro per caratteristiche sia note che ignote
- E' una forma più o meno sofisticata di sorteggio (es. generazione da parte di un computer di sequenze numeriche casuali)

CECITÀ

Singolo cieco: il soggetto sotto sperimentazione non sa quale trattamento sta ricevendo

Doppio cieco: sia il soggetto, sia gli sperimentatori non sanno quale trattamento si assume/somministra

Sperimentazioni controllate non randomizzate: limiti

- ✓ L'assegnazione non random dei trattamenti è prevedibile e può essere modificata dalla preferenza del ricercatore a favore di uno dei due trattamenti: i gruppi a confronto non sono più comparabili

Doppio cieco

- Non conoscere il trattamento che si riceve (paziente) o che si somministra (sperimentatore) impedisce di essere influenzati dalle aspettative che si hanno rispetto al trattamento
- Altrettanto importante è essere “ciechi” nella valutazione dei risultati della sperimentazione
- Quali accorgimenti sono stati adottati in tutto il corso dello studio per mantenere la condizione di doppia cecità?

IL CAMPIONE

- Il campione “ideale” è quello in grado di *riprodurre tutte le caratteristiche della popolazione di provenienza*. E' l'unico modo affinché i risultati che si otterranno possano essere *generalizzabili all'intera popolazione*.
- Per avvicinarsi a ciò, esso va *estratto dalla popolazione di provenienza secondo un procedimento casuale* che dia ad ogni componente le stesse probabilità di entrare, affinché le proporzioni dei soggetti con diverse caratteristiche siano il più possibile rappresentative di quelle presenti nella popolazione.

Rappresentatività del campione

La popolazione è la totalità delle osservazioni, di cui il campione è una quota rappresentativa.

Il campione è un insieme di osservazioni tratte dalla popolazione.

Il campione deve essere rappresentativo per permettere l'inferenza e casuale per essere rappresentativo.

Rappresentatività del campione

- I risultati di uno studio sono estrapolabili solo ai soggetti con le stesse caratteristiche dei reclutati
- Criteri di inclusione troppo rigidi non permettono di sapere se l'intervento in sperimentazione avrebbe gli stessi risultati nella popolazione
- Problema donne in gravidanza, ultra anziani, bambini, spesso esclusi dalle sperimentazioni ma poi trattati quando i farmaci entrano in commercio

INFERENZA STATISTICA

CAMPIONE  POPOLAZIONE

La casualità del campione consente di utilizzare le procedure dell'inferenza statistica trasferendo i risultati alla popolazione



Un momento fondamentale del trial clinico è la definizione dei **criteri di inclusione ed esclusione** dei pazienti

Dimensione del campione

- lo studio è un esperimento che coinvolge *persone*
- non dovrebbero mai essere arruolate più persone di quelle necessarie (etica)
- la numerosità del campione deve essere tale da rispondere agli obiettivi dello studio (potenza statistica)

Dimensione del campione

La corretta *stima della numerosità del campione* è un aspetto fondamentale del protocollo di studio.

E' una stima basata su criteri statistici

Esistono formule per la determinazione del numero di pazienti da arruolare, che richiedono certezza su alcuni specifici quesiti:

- Δ minima di interesse clinico fra i trattamenti a confronto
- quale è la variabilità della risposta, in caso di dati quantitativi
- quale è il valore α prescelto (di solito il 5%, 0.05)
- quale è il massimo errore β accettato (fra il 10 e il 20%)

PROGRAMMAZIONE DI UNO STUDIO: IL PROTOCOLLO

- ✓ Il disegno di una sperimentazione clinica è definito in un protocollo che contiene gli obiettivi e le procedure specifiche da usarsi nello studio
- ✓ Deve essere scritto prima del trial
- ✓ Deve contenere informazioni quali i metodi per la selezione dei gruppi di studio e istruzioni dettagliate per l'esecuzione dei test di laboratorio
- ✓ Se durante il corso della sperimentazione sorgono dei problemi, a causa di determinate situazioni contingenti, il protocollo deve essere utilizzato come guida per quello che il ricercatore deve fare.

SCHEMA DEL PROTOCOLLO (1)

1. Fondamenti e motivazioni scientifiche dello studio
2. Obiettivi specifici dello studio
3. Concisa definizione del disegno dello studio(mascheramento, schemi di randomizzazione, tipi e durata dei trattamenti, numero dei pazienti)
4. Criteri per l'inclusione ed esclusione dei soggetti
5. Schema delle procedure di trattamento
6. Definizione di tutte le metodiche cliniche, di laboratorio, etc.

SCHEMA DEL PROTOCOLLO (2)

7. Metodi per assicurare l'integrità dei dati
8. End point primari e surrogati
9. Iniziative previste per l'osservazione e la registrazione degli eventi avversi
10. Procedure per deviazioni dal protocollo
11. Procedure per ottenere il consenso del soggetto
12. Procedure per analizzare i risultati
13. Appendici, schede, etc.

END-POINT

Definiti gli *obiettivi principali e secondari dello studio*, vengono definite le **misure (end-points) di efficacia** scelte per valutare il raggiungimento degli obiettivi

End-point principale:

- > **rilevante** rispetto all'obiettivo principale
- > **sensibile** per poter rilevare effetti terapeutici moderati
- > **specifico** nei confronti degli effetti attesi del trattamento
- > **unico**
- > determinante per la stima del sample size

END-POINT

End-points secondari: non possono surrogare il mancato raggiungimento dell'obiettivo primario oggetto dell'ipotesi.

Hard end-points: indicatori principali di prognosi complessiva, facili da verificare, netti, importanti per la gestione dei pazienti (mortalità, eventi clinici maggiori)

Soft end-points: determinazione meno sicura (es. miglioramento-peggioramento della qualità di vita, dolore, sintomi vari, etc)

END-POINT

Validazione: la misura scelta deve essere validata per lo scopo prefissato (es: scala per la depressione)

Significato clinico: la misura che ho scelto è realmente significativa da un punto di vista clinico?

END-POINT

End-point indiretto o **surrogato**: indicatore dell'efficacia di un intervento che non è di per se l'obiettivo principale dell'intervento stesso, ma lo rappresenta in modo affidabile (es. variazioni parametri di laboratorio, ecc.)

Biological Marker: è una caratteristica misurata e valutata obiettivamente che serve da indicatore di un normale processo biologico, di un processo patologico o di una risposta farmacologica ad un intervento terapeutico

Quando vi sia evidenza epidemiologica, fisiopatologica, biologica o statistica che un biomarker possa predire un effetto clinico il biomarker può svolgere la funzione di endpoint surrogato

END-POINT

End-point composito:

- ✓ misura composta di diverse misure (es: mortalità + eventi cardiovascolari gravi in un trial sull'efficacia di un antiipertensivo in pz cardiologici)
- ✓ Strategia utile quando gli eventi attesi sono abbastanza rari e quindi lo studio richiederebbe una numerosità campionaria troppo ampia

ANALISI DEI DATI

ORIGINAL ARTICLE

Comparing and Combining Naltrexone and Acamprosate in Relapse Prevention of Alcoholism

A Double-blind, Placebo-Controlled Study

Fall: Kiefer, MD; Holger Jahn, MD; Timo Tarnaske; Hauke Helwig; Peer Briken, MD; Rüdiger Holzbach, MD; Philipp Kampf, MD; Robert Stracke, MD; Michael Bachr, PhD; Dieter Naber, MD; Klaus Wiedemann, MD

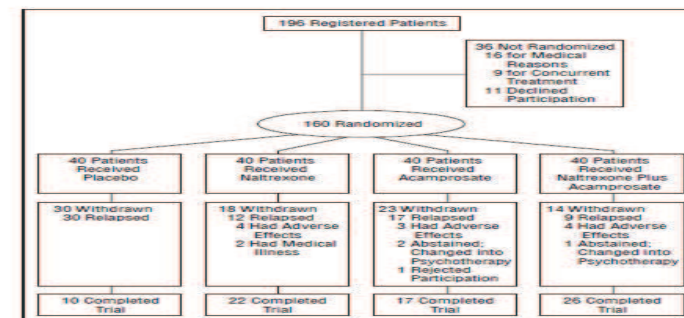


Figure 1. Profile of the randomized controlled trial applying naltrexone, acamprosate, naltrexone plus acamprosate, and placebo to patients with alcoholism. Follow-up lasted 12 weeks.

ANALISI DEI DATI

- ✓ Analisi **per-protocol (PP)**: include nella valutazione tutti i pazienti cosiddetti valutabili, cioè che hanno effettivamente assunto la terapia prescritta con violazioni minime del protocollo.
- ✓ Questo sottoinsieme di soggetti ci dà il massimo dell'informazione circa la reale efficacia del trattamento.
- ✓ Si tratta di un campione "selezionato", che raramente riflette le condizioni reali della pratica clinica.

ANALISI DEI DATI

➤ Analisi **intention-to-treat (ITT)**: include nella valutazione tutti i pazienti randomizzati per i quali è disponibile almeno una osservazione dopo l'inizio del trattamento (dopo la randomizzazione).

È un campione che **rappresenta da vicino la futura popolazione di pazienti**, dove errori di prescrizione e non-compliance sono molto più frequenti.

La procedura ideale è quella in cui vengono effettuati entrambi i tipi di analisi e la situazione ottimale è quella in cui i risultati delle due analisi coincidono.

ANALISI DEI DATI

- **safety population:**
- ✓ Serve a valutare la sicurezza di impiego di un trattamento
- ✓ Vengono valutati tutti i pazienti arruolati che abbiano assunto almeno una dose di farmaco (o siano stati sottoposti ad una sessione di trattamento se l'intervento non è farmacologico)

REVISIONI SISTEMATICHE E METANALISI DI STUDI CLINICI

- ✓ Una revisione sistematica è una overview degli studi primari che usa espliciti e riproducibili metodi
- ✓ Una meta-analisi o revisione sistematica quantitativa, è una sintesi matematica dei risultati di due o più studi che affrontano una stessa ipotesi con la stessa metodologia
- ✓ Sebbene le meta-analisi possano aumentare la precisione di un risultato, è importante assicurarsi che la metodologia sia applicata correttamente

METANALISI DI STUDI CLINICI

Permette di condurre *a posteriori* un'analisi combinata di diversi studi randomizzati su una certa terapia, per *trarne una valida inferenza anche se i singoli studi producono risultati non significativi o discrepanti*.

METANALISI DI STUDI CLINICI

- Analisi *stratificata e ponderata (sistemica)* che giunge a un *indice globale*, espresso come uno dei rapporti disponibili fra il rischio di comparsa dell'evento con l'una e con l'altra terapia (RA, RR, odds ratio), accompagnato dai relativi limiti fiduciali.
- Cruciale la *scelta degli studi da inserire nell'analisi* (costituiscono il campione) >> *publication bias*
- Può essere di concreto aiuto al medico per farsi un'idea su un trattamento.

METANALISI DI STUDI CLINICI

- ✓ Definizione dell'obiettivo
- ✓ Definizione dei criteri di inclusione ed esclusione dei trial
- ✓ Ricerca dei trial di interesse
- ✓ Analisi critica dei trial inclusi (valutarne la qualità)
- ✓ Combinare i risultati dei trial (pooling) simili tra loro
- ✓ Interpretazione che tenga conto delle eventuale eterogeneità inter-trial

METANALISI DI STUDI CLINICI

- ✓ Meta-analisi di pochi trial e con un piccolo numero totale di soggetti sono inaffidabili e poco riproducibili
- ✓ E' difficile combinare insieme trial troppo eterogenei per le caratteristiche dei soggetti, per modalità di trattamento, per end-point, per risultati

Atypical Antipsychotics in the Treatment of Schizophrenia: Systematic Overview and Meta-regression Analysis

J. Geddes, N. Freemantle, P. Harrison, P. Bebbington for the National Schizophrenia Guideline Development Group

British Medical Journal 231, 2 December 2000, 1371-6

Atypical antipsychotics in the treatment of schizophrenia: systematic overview and meta-regression analysis

John Geddes, Nick Freemantle, Paul Harrison, Paul Bebbington for the National Schizophrenia Guideline Development Group

Abstract

Objective To develop an evidence base for recommendations on the use of atypical antipsychotics for patients with schizophrenia.

Design Systematic overview and meta-regression analyses of randomised controlled trials, as a basis for formal development of guidelines.

Subjects 12 649 patients in 52 randomised trials comparing atypical antipsychotics (amisulpride, clozapine, olanzapine, quetiapine, risperidone, and sertindole) with conventional antipsychotics (usually haloperidol or chlorpromazine) or alternative atypical antipsychotics.

Main outcome measures Overall symptom scores. **Rate of drop out** (as a proxy for tolerability) and of side effects, notably extrapyramidal side effects.

British Medical Journal 231, 2 December 2000, 1371-6

Atypical antipsychotics in the treatment of schizophrenia: systematic overview and meta-regression analysis

John Geddes, Nick Freemantle, Paul Harrison, Paul Bebbington for the National Schizophrenia Guideline Development Group

Methods

Inclusion criteria

We included randomised trials of atypical antipsychotics (amisulpride, clozapine, olanzapine, quetiapine, risperidone, and sertindole) against conventional antipsychotics or alternative atypical antipsychotics in patients with schizophrenia or related disorders for which data on efficacy or drop out were available.

Search strategy

We used optimally sensitive search strategies, based on a combination of text and index terms of Medline, Embase, PsychLIT, and the Cochrane Controlled Trial Register to locate randomised trials comparing the effectiveness of atypical and conventional antipsychotic drugs in the treatment of schizophrenia and related

British Medical Journal 231, 2 December 2000, 1371-6

Atypical antipsychotics in the treatment of schizophrenia: systematic overview and meta-regression analysis

John Geddes, Nick Freemantle, Paul Harrison, Paul Bebbington for the National Schizophrenia Guideline Development Group

1 December 1999.

For each trial, we identified the inclusion and exclusion criteria, length of follow up, main outcome measures, and patient characteristics. Data on overall symptom scores (brief psychiatric rating scale or positive and negative syndrome scale (box)), quality of life, drop out, side effects, and costs were collected. We appraised the quality of each study by assessing features empirically associated with bias, including concealment of allocation,¹¹ loss to follow up, and level of blinding (open, single, or double).¹² If data on main outcomes were missing or trials were unpublished, we requested data from the authors and sponsors of trials and sent reminders after one month. In dose ranging studies, only data on doses of atypical antipsychotic drugs within the licensed therapeutic ranges were included.

British Medical Journal 231, 2 December 2000, 1371-6

Atypical antipsychotics in the treatment of schizophrenia: systematic overview and meta-regression analysis

John Geddes, Nick Freemantle, Paul Harrison, Paul Bebbington for the National Schizophrenia Guideline Development Group

Results

We identified 52 trials, including 12 649 patients, meeting the inclusion criteria. Most were short term (median follow up 6.5 weeks), although five trials provided follow up data for one year or more (see tables 1-21 on *BMJ's* website).^{9,10} Most trials compared the effectiveness of atypical antipsychotics with haloperidol. Occasionally, chlorpromazine was also used, and flupenthixol, perphenazine, and zuclopenthixol were the comparators in one trial each. There was substantial drop out in most trials from each group. This made interpretation of the commonly used "last observation carried forward" analyses problematic as it introduced uncertainty about the actual clinical state of the patients after they left the study.

The results presented for individual drugs depend on the data available from the trials and mainly concern

Atypical antipsychotics in the treatment of schizophrenia: systematic overview and meta-regression analysis

John Geddes, Nick Freemantle, Paul Harrison, Paul Bebbington for the National Schizophrenia Guideline Development Group

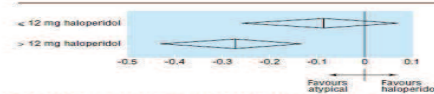


Fig 1 Overall symptom score by dose of comparator drug in trials of patients with schizophrenia or related disorders (standardised weighted mean difference and 95% confidence intervals)

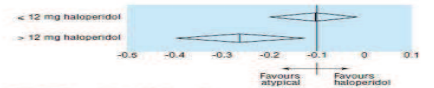


Fig 2 Drop out rates by dose of comparator drug in trials of patients with schizophrenia or related disorders (risk difference and 95% confidence intervals)

daily). meta-regression identified a significant advantage for atypical antipsychotics as the dose of haloperidol increased; the coefficient describing the effect of dose was -0.021 (-0.003 to -0.039). The observed advantage in favour of the atypical drug disappeared as the dose of haloperidol decreased. A similar effect was seen for chlorpromazine, which was used in seven trials. Within the range of mean doses of chlorpromazine (about 375-1000 mg daily), meta-regression identified a significant advantage for atypical antipsychotics as the dose of chlorpromazine increased (-1.14 (-1.68 to -0.58)).

Metanalisi dei Clinical Trials di Antipsicotici Atipici

- ❖ 52 trials di amisulpiride, clozapina, olanzapina, quetiapina, risperidone e sertindolo - 12.649 pazienti
- ❖ Maggior parte dei trials a breve termine (mediana, 6.5 settimane)
- ❖ Aloperidolo comparator di riferimento più utilizzato
- ❖ Elevato numero di drop-out in tutti i trial (riserve sulla rappresentatività del metodo LOCF)

Geddes et al, Brit Med J 2000; 321:1371-6

Metanalisi dei Clinical Trials di Antipsicotici Atipici

- ❖ Notevole eterogeneità dei risultati da un trial all'altro, anche per lo stesso farmaco-spiegata principalmente da differenze di dose del comparator (aloperidolo)
- ❖ Vantaggi di efficacia e tollerabilità dell'atipico osservati solo se comparator era usato ad alte dosi
- ❖ Per dosi di aloperidolo < 12 mg/d, nessuna differenza di efficacia (BPRS) o di tollerabilità complessiva (drop-out) tra aloperidolo e antipsicotico atipico.
- ❖ Nessuna evidenza di effetti preferenziali dell'antipsicotico atipico sui sintomi negativi (o positivi)

Geddes et al, Brit Med J 2000; 321:1371-6