



ATTI DEL CONVEGNO

**“LE BASI SCIENTIFICHE
DELLA CONOSCENZA MEDICA”**

ASPETTI DI EPIDEMIOLOGIA E STATISTICA

ASCOLI PICENO - 22 Ottobre 2005

Sala degli Specchi

Associazione Industriale della Provincia

***Scuola Multidisciplinare di Formazione Aggiornamento e Qualificazione
in Fisiopatologia del Tratto Genitale e Malattie a Trasmissione Sessuale***

Riconosciuta dalla I.U.S.T.I. - EUROPE

International Union Against Sexually Transmitted Infections

Union Internationale Contre Les Infections Sexuellement Transmises

CONSIGLIO DIRETTIVO DELLA SCUOLA:

Dott. Mario Peroni - Ascoli Piceno

Dott. Clara Lamieri - Ascoli Piceno

Dott. Amos Ciabattoni - Roma

Dott. Fabrizio Fabiano - San Severo (FG)

Dott. Fabrizio Sebastiani - Ascoli Piceno

Dott. Paolo Visci - Pescara

- I testi presenti in questo volume sono stati riprodotti da dischetto così come inviati dagli Autori di cui rispecchiano il pensiero.

- © Copyright 2005

Scuola Multidisciplinare di Formazione Aggiornamento
e Qualificazione in Fisiopatologia del Tratto Genitale e
Malattie a Trasmissione Sessuale - Via C. A. Vecchi, 19
63100 Ascoli Piceno

- Tutti i diritti riservati.

E' vietata la riproduzione totale o parziale dei testi e dei CD, con qualsiasi mezzo, senza l'autorizzazione scritta della Scuola Multidisciplinare.

Le basi razionali della sperimentazione clinica: classificazione degli studi clinico epidemiologici.

Fabio Parazzini

*Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Milano e Prima Clinica Ostetrico
e Ginecologica Università di Milano*

Il primo passo nella conoscenza epidemiologica è rappresentato dall' *epidemiologia descrittiva*, che studia la frequenza e la distribuzione geografica delle patologie o di altri rilevanti fattori sanitari nella popolazione. Il secondo passo consiste nel formulare ipotesi, che spieghino le differenze osservate, e verificarne la correttezza o smentirle, tramite gli studi osservazionali, che non prevedono alcun intervento, ma si limitano ad osservare gli effetti di un' esposizione già avvenuta o di un intervento che sarebbe comunque stato effettuato indipendentemente dalla conduzione della ricerca. Il passo successivo è disegnare studi dove lo sperimentatore decida quali soggetti devono essere esposti ad un determinato fattore o farmaco. Lo schema di classificazione degli studi epidemiologici vede quindi, in contrapposizione agli studi osservazionali nei quali l' esposizione non è assegnata casualmente, gli studi interventistici, nei quali l' esposizione è attribuita dallo sperimentatore (Figura 1).

STUDI DI EPIDEMIOLOGIA OSSERVAZIONALE

Gli studi che non prevedono alcun intervento, ma si basano semplicemente sull'osservazione dei soggetti in studio, si dividono classicamente a seconda che la selezione dei soggetti sia fatta in funzione di un' esposizione a fattori di rischio (gruppo esposto confrontato con gruppo non esposto, studio di coorte) o in base alla presenza di una patologia (gruppo con patologia confrontato con gruppo senza patologia, studio caso-controllo). Questa distinzione è fondamentale, in quanto da essa deriva la comprensione degli ambiti di utilizzo dei due tipi di studio [1,2]. Negli studi di coorte il confronto si svolge tra gruppi che sono o non sono stati esposti ad un fattore di rischio. Sarà quindi possibile studiare le patologie insorte successivamente, potenzialmente legate all' esposizione. Non necessariamente gli studi di coorte sono prospettici, in quanto possono essere condotti sulla base di documentazione già esistente (cartelle cliniche, registri di fabbrica per esposizioni occupazionali, registri di patologie), ed in questo caso vengono definiti storici, in quanto definiscono i gruppi di esposizione nel passato e verificano le conseguenze successive all' esposizione in termini di mortalità e incidenza per le patologie oggetto di studio.

Al contrario, negli studi caso-controllo una sola patologia o gruppo di patologie potrà essere correlata ad una serie di esposizioni, o gruppi di esposizioni. Per definizione gli studi caso-controllo sono *retrospettivi*, concetto che implica l'andare indietro nel tempo, poiché l'esposizione al fattore di rischio non può non precedere la patologia.

Per gli aspetti relativi all'analisi degli studi caso-controllo, si rimanda a testi ad hoc relativi agli studi caso-controllo [3,4] e di coorte [5].

Gli studi caso-controllo

Uno studio retrospettivo inizia con l'identificazione dei soggetti che soffrono della patologia in esame (casi), seguita dalla selezione di un gruppo di persone privo della patologia (controlli). Per ogni soggetto malato e per ogni controllo si raccoglie la storia della presenza o assenza (o livello) di ogni fattore di rischio oggetto dello studio. Il confronto tra i dati raccolti per casi e controlli permette di verificare se il fattore in analisi è presente in maniera diversa nei due gruppi: se l'evidenza è sufficiente, si potrà affermare con un buon grado di sicurezza che il fattore considerato è associato alla patologia in studio.

Il punto di partenza di questo tipo di studi è l'identificazione dei casi. Questa richiede una definizione adeguata della patologia e attenzione nell'evitare gli errori sistematici nella selezione dei casi. Identificare in ospedale i casi di una patologia benigna può selezionare i soggetti, in quanto l'ospedalizzazione può non dipendere solo dalla severità della patologia ma anche da altre variabili, quali la classe sociale del paziente. E' preferibile utilizzare i casi incidenti anziché i prevalenti. Infatti la prevalenza non è solo influenzata dal rischio di sviluppare la malattia, ma anche dai fattori che ne determinano la durata. Inoltre, una malattia di lunga durata può rendere difficoltoso individuare quali fattori la hanno preceduta e quali seguita, soprattutto se bisogna fare affidamento sulla memoria del paziente.

Mentre di solito non è difficile trovare un'adeguata fonte di casi, la selezione dei controlli può essere più problematica. In teoria, i controlli dovrebbero essere del tutto confrontabili con i casi per tutti i fattori di rischio, eccetto quello in esame. Quando, per qualsiasi causa, esista una differenza sistematica tra casi e controlli in relazione all'esposizione, si è in presenza di un errore sistematico definito *bias di selezione*. Dal punto di vista dei fattori di rischio, i controlli non devono essere necessariamente rappresentativi della popolazione generale; particolarmente se sono stati introdotti dei fattori di selezione nell'identificazione dei casi, è sufficiente che i fattori di rischio presenti nel gruppo di controllo siano confrontabili con quelli dei casi, fatta eccezione per il fattore in studio.

Esistono fondamentalmente due fonti da cui estrarre i controlli. I controlli selezionati dalla popolazione presentano il vantaggio che è probabile che le loro esposizioni siano rappresentative della popolazione generale; tuttavia, la valutazione dell'esposizione d'interesse può non essere confrontabile con quella dei casi, in particolare se la valutazione si ottiene per "richiamo" personale. I casi sono generalmente interessati a cercare le possibili cause delle loro malattie, quindi più motivati dei

controlli, che non hanno nessuno speciale interesse alla questione, a ricordare dettagli del loro passato. La differenza di attitudine a ricordare eventuali esposizioni può introdurre un errore sistematico che prende il nome di *bias di informazione*. La misura dell'esposizione può essere resa più confrontabile utilizzando come controlli pazienti con altre patologie, quindi gruppi di controllo ospedalizzati. Anche tra questi esistono comunque problemi aperti rispetto ai criteri di inclusione. I controlli devono pertanto non essere assimilabili ai casi per quanto riguarda sia le premesse che le conseguenze della malattia. Per esempio, se uno studio sull'associazione tra il tumore della vescica e il fumo utilizza come controlli pazienti ricoverati in reparti di Pneumologia, i risultati saranno fuorvianti, con una netta sottostima del rischio relativo: infatti i controlli riconoscono tra le cause della loro patologia lo stesso fattore di rischio indagato nello studio.

Al contrario, si avrebbe una sovrastima del rischio qualora i controlli, a seguito dell'insorgenza della malattia, abbiano modificato quelle stesse abitudini di vita coinvolte come determinanti della patologia in studio, dal momento che si eseguirebbe il confronto con pazienti eccezionalmente privi del fattore rischio. Si è quindi stabilito che la patologia dei controlli non deve essere stata diagnosticata in precedenza, o essersi annunciata con sintomatologia specifica.

In linea generale, è più sicuro identificare i controlli tra pazienti con varie diagnosi, piuttosto che concentrarsi su una sola categoria diagnostica, cosa che potrebbe inavvertitamente introdurre errori sistematici.

Un altro errore sistematico contro il quale bisogna cautelarsi nel disegno e nell'analisi degli studi caso-controllo è il *bias di reclutamento*, che si verifica quando un fattore è associato sia all'esposizione che alla malattia. Ad esempio il tumore della mammella è più frequente nelle classi sociali più elevate, le stesse che fanno maggior uso di contraccettivi orali. E' quindi possibile che l'eventuale associazione possa emergere in conseguenza di questo fattore di confondimento. Il termine *confondente* si applica quindi ad una variabile contemporaneamente associata alla patologia e all'esposizione in esame.

Gli errori sistematici vanno considerati e prevenuti a livello di disegno dello studio. Al contrario, gli *errori casuali* sono funzione del potere statistico dello studio e come tali vanno considerati al momento del computo della numerosità del campione.

Gli studi di coorte.

Negli studi di coorte, in contrapposizione agli studi caso-controllo, si identifica un gruppo di persone esposte ad un determinato fattore di rischio e allo stesso tempo un gruppo di persone non esposte allo stesso fattore. Entrambi i gruppi vengono poi seguiti nel tempo per determinare l'insorgenza di nuovi casi della malattia (o delle malattie) in questione. Da qui si calcolano i tassi di incidenza negli esposti e nei non esposti e, confrontando i tassi di incidenza, si ottengono i rischi relativi ed attribuibili.

Il maggior problema degli studi di coorte è che, se si è interessati a studiare malattie non frequenti quali i tumori, è necessario seguire un gran numero di persone per un lungo periodo di tempo, per raggiungere una numerosità di casi tale da ottenere dei

risultati statisticamente significativi. Inoltre, nel caso dei tumori, avviene che per la maggior parte dei carcinogeni vi è un lungo periodo tra la prima esposizione al fattore di rischio e lo sviluppo della malattia. Questi sono i motivi per cui gli studi di coorte sono generalmente lunghi e costosi.

Si può in parte ovviare al problema conducendo quelli che abbiamo definito studi di coorte storici o retrospettivi. Uno studio di coorte storico identifica i soggetti esposti ad un fattore di rischio nel passato, e ne ricostruisce la storia successiva, utilizzando dati già disponibili. Questo tipo di studio si può effettuare quando i dati di esposizione e di esito siano reperibili con una affidabilità, quando ad esempio si considerino esiti come la morte o l'insorgenza di tumori, mentre la presenza di disturbi come l'asma può essere difficile da stabilire retrospettivamente.

Una modifica del metodo degli studi di coorte prevede che, invece di seguire nel tempo un gruppo selezionato come controllo, si utilizzino i registri nazionali o regionali delle malattie nella popolazione. Questo metodo è legittimo quando l'esposizione nella popolazione generale sia trascurabile. Ad esempio, con una coorte di persone esposte ad un agente cancerogeno nell'ambito occupazionale, l'esposizione nella popolazione generale è minima e i tassi nazionali di morte possono essere usati come riferimento. Il numero di morti nella coorte viene confrontato con il numero atteso se i soggetti avessero avuto la stessa distribuzione di per età, sesso e periodo di calendario della popolazione generale.

(La Tabella 1 sintetizza le principali differenze metodologiche tra gli studi caso-controllo e coorte)

GLI STUDI DI INTERVENTO

Gli studi clinici controllati randomizzati rappresentano nella gerarchia degli studi il punto più elevato.

Negli studi sperimentali è lo sperimentatore che stabilisce chi è esposto e chi no al fattore oggetto di studio, ovvero attribuisce il trattamento. Per verificare la efficacia di un farmaco, od in generale di un intervento sanitario, nella pratica clinica è necessario confrontare il nuovo trattamento con quello già in uso. Il gruppo dei pazienti trattati verrà confrontato in termini di esiti con il gruppo che non è trattato, o è trattato diversamente, e rappresenta il gruppo di controllo.

Negli anni '70 e '80 ricerche metodologiche hanno definito le regole di questi studi clinici. In particolare, è stato stabilito il ruolo degli studi clinici controllati randomizzati (randomized clinical trial, RCT) ed ora questi studi sono considerati il miglior metodo per testare qualunque nuovo trattamento [6]. In generale, gli studi clinici sono stati sviluppati per valutare nuovi farmaci, ma devono essere usati anche per testare nuovi procedimenti chirurgici o test diagnostici.

In questo articolo non viene discussa l'analisi degli studi clinici controllati: questo aspetto è facilmente disponibile in un gran numero di testi di statistica usualmente consultati per la ricerca medica [7].

Le fasi dello sviluppo clinico di un nuovo farmaco.

Nello sviluppo clinico di un nuovo prodotto farmacologico, esistono diverse fasi cliniche. Esse differiscono per l'obiettivo principale, per la dimensione del campione e per la durata (si veda Tabella 2) [8].

La scelta del gruppo di controllo.

La condizione necessaria generale per confrontare pazienti trattati con qualunque nuovo farmaco è che essi non abbiano una risposta clinica (rilevante per lo studio) sistematicamente diversa da quella rilevata nel gruppo di controllo. L'assunzione è che i pazienti in gruppi differenti abbiano differenti probabilità di incorrere nell'evento in studio (morte, complicazioni o modifiche di una variabile clinica), dovute solo agli effetti del trattamento. Perciò la definizione di un gruppo di controllo adatto diventa il tema centrale nelle ricerche cliniche controllate.

In teoria, si possono distinguere tre tipi di controlli:

- controlli storici
- controlli concorrenti non randomizzati
- controlli randomizzati

La scelta dei controlli storici principalmente è causata da criteri di ordine economico e pratico. Permette l'uso, come gruppo di controllo, di pazienti osservati prima del punto di partenza dello studio: ciò riduce di molto il numero di soggetti da arruolare nello studio e conseguentemente il tempo e le risorse necessarie [9]. Questi fattori possono diventare estremamente importanti quando si ha a che fare con malattie rare e i benefici attesi da una nuova terapia sono molto alti. Nondimeno, questa scelta implicherà spesso sostanziali difficoltà nell'interpretazione dei risultati [10,11]. In primo luogo, la definizione di una malattia può cambiare in maniera rilevante nel tempo. Per esempio, una maggior attenzione nella stadiazione dei tumori od un cambiamento nei criteri di staging può portare a studiare tumori simili in modo diverso. Altre difficoltà nel confronto con controlli storici sono causate dall'evoluzione nel tempo della prognosi della malattia.

Questo cambiamento può essere dovuto a modifiche degli stili di vita o da fattori rilevanti per la storia naturale della condizione.

Ci sono tecniche statistiche che tengono in considerazione le differenze prognostiche tra pazienti trattati e non trattati, che però possono non essere utilizzabili quando i fattori potenzialmente importanti non sono definiti o quantificati con precisione. Questa considerazione è cruciale anche nel superare i limiti inerenti all'uso dei controlli concorrenti non randomizzati.

Anche se in questo tipo di situazione alcuni degli errori sistematici dovuti al cambiamento delle procedure diagnostiche o dei trattamenti non si verificano, è facile prevedere che possa verificarsi una allocazione privilegiata di quei pazienti, che secondo il medico avranno una risposta migliore al trattamento.

Randomizzazione

L'approccio metodologico per superare i predetti inconvenienti è l'allocazione casuale del trattamento, o randomizzazione [12]. La randomizzazione è il punto di partenza fondamentale per la validazione del modello probabilistico sul quale si fonda l'analisi statistica [6]. La randomizzazione salvaguarda la stima e la relativa varianza degli effetti dei trattamenti dalle distorsioni sistematiche, introdotte dalla selezione *prima* dell'ingresso in studio. Il medico non è al corrente del trattamento cui verrà assegnato il singolo paziente al momento dell'ingresso in studio e perciò non è in condizione di effettuare selezioni, deliberate o inconsce. Inoltre, la randomizzazione protegge dall'effetto confondente di differenze importanti che derivano dalle caratteristiche rilevanti che i pazienti, appartenenti ai differenti gruppi di trattamento, possono presentare. Così, se il numero dei soggetti è sufficientemente elevato, la allocazione casuale garantisce che vari fattori (noti o meno) che possono influenzare la prognosi di una malattia siano distribuiti regolarmente tra i gruppi di trattamento.

La randomizzazione segna l'inizio del periodo di osservazione dei soggetti (follow-up) all'interno dello studio, che continua durante il trattamento e prosegue per un periodo successivo, predefinito.

Va puntualizzato che questo tipo di studio è molto simile, in termini di disegno, agli studi di coorte, dove i soggetti con una certa condizione vengono osservati fino al verificarsi di un evento definito dal ricercatore. In uno studio clinico controllato, la dose ed il tempo di esposizione (il trattamento) sono definiti dall'osservatore, e l'assegnazione ad un tipo di esposizione non dipende né dal soggetto né dall'osservatore, ma dal caso (randomizzazione).

Così, i soggetti di entrambi i gruppi dovrebbero avere la stessa probabilità di incontrare l'evento in studio, in assenza del trattamento.

CONCLUSIONI

Come abbiamo visto compito della epidemiologia osservazionale è quello di offrire spunti di ricerca. In alcune situazioni non è possibile condurre studi in cui il trattamento o la esposizione sia assegnata casualmente. Ad esempio non è eticamente possibile condurre studi in cui alcuni soggetti vengano convinti a fumare. In tali casi possiamo affidarci solo ai risultati della epidemiologia osservazionale. Ma in tutte le altre situazioni si devono condurre studi clinici controllati.

Bibliografia

1. Mac Mahon B, Trichopoulos D. *Epidemiology. Principles and Methods*. Boston: Little Brown, 1996.
2. Valsecchi M.G, La Vecchia C. *Epidemiologia e Metodologia epidemiologica clinica*. Genova. Accademia Nazionale di Medicina, 1999.
3. Breslow NE, Day NE. *Statistical Methods in Cancer research, vol. I. The analysis of case-control studies*. IARC, Lyon, 1980. IARC Sci Publ no.32.
4. Mantel N, Hanszel W. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of diseases. *J Natl Cancer Inst* 1959; 22: 719-748.
5. Breslow NE, Day NE. *Statistical Methods in Cancer research, vol. II. The design and analysis of cohort studies*. IARC, Lyon, 1987. IARC Sci Publ no.82.
6. Pocock SJ. *Clinical trials. A practical approach*. Chichester: John Wiley & Sons, 1983.
7. Armitage P, Berry G. *Statistical Methods in Medical Research*. (Second Edition). Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1987.
8. Mulhall JP. Deciphering Erectile Dysfunction Drug Trias. *J Urol* 2003; 170: 353.
9. Dupont WA. Randomized vs historical clinical trials. Are the benefits worth the cost? *Am J Epidemiol* 1985; 122: 940–946.
10. Sacks H, Chalmers TC, Smith H Jr. Randomized versus historical controls for clinical trials. *Am J Med* 1982; 72: 233–240.
11. Olive DL. Analysis of clinical fertility trials: A methodologic review. *Fertil Steril* 1986; 45: 157.
12. Doll R. Controlled Trials: the 1948 watershed. *BMJ* 1998; 317: 1217.

Tabella 1 - Confronto tra studi caso-controllo e studi di coorte.

Caso-controllo	Coorte
<p>Solitamente di durata limitata, relativamente economici e logisticamente semplici</p> <p>Possono rappresentare l' unico mezzo per studiare patologie rare</p> <p>Permettono di raccogliere informazioni specifiche e dettagliate su ogni soggetto e di considerare diversi fattori eziologici</p> <p>Si riferiscono per definizione ad una sola patologia</p> <p>Sono soggetti a bias nella selezione di casi e controlli</p> <p>Consentono di solito solo la stima dei rischi relativi</p> <p>Non consentono di studiare le variabili che vengono alterate dalla patologia stessa</p> <p>Possono esservi problemi di memoria nel misurare l'esposizione</p>	<p>Di solito di lunga durata, costosi e logisticamente complessi</p> <p>Praticabili in genere solo per patologie relativamente comuni</p> <p>La numerosità del campione di solito impedisce di raccogliere dati molto dettagliati su ciascun soggetto</p> <p>Consentono di studiare contemporaneamente diverse patologie</p> <p>Sono solitamente meno soggetti a bias</p> <p>Offrono una stima sia dei rischi relativi che dei rischi assoluti</p> <p>Consentono di studiare anche le variabili alterate dalla patologia</p> <p>Permettono di evitare i bias di memoria</p>

Tabella 2. Le fasi cliniche

Fase	Obiettivo principale	N° di pazienti	Durata
I	Farmacocinetica e sicurezza	50-100	1 anno
Ia	Efficacia e tollerabilità su piccola scala	100-200	1-2 anni
Ib	Definizione del dosaggio	200-300	1-2 anni
III	Efficacia e tollerabilità su vasta scala	500-2000	3 anni
IV	Tasso degli eventi avversi	1000-5000	lungo termine

Figura 1 - Classificazione degli studi epidemiologici

