

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA  
DIPARTIMENTO DI SCIENZE STATISTICHE  
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN  
SCIENZE STATISTICHE



**Ricerca di segnali nella farmacovigilanza pediatrica:  
applicazione e confronto di metodi di disproporzionalità  
corretti per età**

Relatore Dott. Belloni Pietro  
Dipartimento di Scienze Statistiche

Laureanda Pizzolato Federica  
Matricola n° 2057423

Anno Accademico 2023/2024



*Alla mia famiglia*



# Indice

<b>Introduzione</b>	<b>1</b>
<b>1 La farmacovigilanza</b>	<b>5</b>
1.1 Le fasi di sviluppo dei farmaci . . . . .	6
1.1.1 L'importanza della fase IV ( <i>Post-marketing</i> ) . . . . .	10
1.1.2 Le reazioni avverse ai farmaci (ADR) . . . . .	11
1.2 La segnalazione spontanea . . . . .	11
1.3 La farmacovigilanza in età pediatrica . . . . .	13
<b>2 I dati</b>	<b>17</b>
2.1 FAERS: <i>FDA Adverse Event Reporting System</i> . . . . .	18
2.1.1 La struttura del FAERS . . . . .	19
2.1.2 La classificazione MedDRA . . . . .	20
2.2 Il database KidSIDES . . . . .	23
2.2.1 Analisi esplorative . . . . .	25
2.3 GRiP <i>reference set</i> . . . . .	26
<b>3 I metodi: Analisi di disproporzionalità</b>	<b>29</b>
3.1 Notazione . . . . .	30
3.2 Metodi frequentisti: ROR e PRR . . . . .	31
3.2.1 ROR aggiustato . . . . .	33
3.3 Metodi Bayesiani: <i>Gamma-Poisson Shrinkage model</i> . . . . .	33
3.4 <i>Regression-adjusted GPS model</i> . . . . .	36
3.4.1 Primo step: selezione dei farmaci e stima del modello logistico . .	37
3.4.2 Secondo step: calcolo delle frequenze attese $E$ . . . . .	39
3.4.3 Terzo step: <i>Bayesian Shrinkage Estimates</i> . . . . .	39
3.5 Dettagli computazionali . . . . .	40
<b>4 Risultati</b>	<b>41</b>
<b>Conclusioni</b>	<b>45</b>
<b>Appendice A</b>	<b>51</b>
<b>Appendice B</b>	<b>53</b>

**Appendice C** **57**

**Bibliografia** **63**







# Introduzione

Durante lo sviluppo di un nuovo farmaco, le aziende farmaceutiche sono tenute a condurre studi clinici per valutarne la sicurezza e rilevare le reazioni avverse (ADR, *Adverse Drug Reaction*) legate al suo utilizzo. Gli effetti indesiderati dei farmaci rappresentano infatti una minaccia significativa, in quanto contribuiscono ai ricoveri, ai decessi e a un notevole onere finanziario per i sistemi sanitari pubblici (Lazarou et al., 1998). Tuttavia, gli studi clinici precedenti alla commercializzazione del farmaco non consentono di identificare tutte le possibili ADR ad esso associate. Ciò accade perché molte di queste reazioni avverse occorrono con una frequenza tale da rendere improbabile l'osservazione durante la fase di sperimentazione clinica. Per questo motivo, è necessaria una fase di sorveglianza *post-marketing* per monitorare costantemente la sicurezza dei farmaci già commercializzati. In questa fase, l'utilizzo dei database di segnalazione spontanea delle reazioni avverse dei farmaci è fondamentale per analizzare le potenziali associazioni tra un farmaco e una ADR. Se tale associazione è riscontrata, può portare al ritiro del farmaco dal mercato o a restrizioni sul suo utilizzo.

Le reazioni avverse dei farmaci comportano rischi significativi, soprattutto in popolazioni vulnerabili come i bambini, che spesso non sono rappresentati o sono sotto-rappresentati negli studi clinici (Chai et al., 2012). Ciò comporta che solo un numero limitato di farmaci sia disponibile per questa fascia d'età e di conseguenza spesso si somministrano a pazienti pediatrici medicinali sviluppati originariamente per pazienti adulti. Inoltre, studi condotti suggeriscono che i bambini rispetto agli adulti sono più suscettibili alle ADR che portano a ricoveri ospedalieri (Smyth et al., 2012). Le reazioni avverse nei pazienti pediatrici, quindi, possono avere conseguenze più gravi. In particolare l'insorgere degli eventi avversi può variare anche all'interno della stessa popolazione pediatrica, in quanto i bambini sono caratterizzati da cambiamenti fisiologici e metabolici durante la crescita, come l'attività enzimatica e i livelli ormonali, differenti da una fascia d'età all'altra.

L'analisi statistica svolge un ruolo cruciale nella scoperta di nuove associazioni tra farmaci e ADR tramite l'analisi dei dati di segnalazioni spontanee raccolti durante la fase di *post-marketing*. Questa tipologia di dati ha la peculiarità di registrare solo casi e non controlli, per cui è necessario utilizzare modelli statistici ad hoc che simulino la presenza di un gruppo di controlli. Per oltre due decenni, le autorità di farmacovigilanza hanno utilizzato queste tecniche statistiche, note come modelli di disproporzionalità, per analizzare sistematicamente i dati sulla sicurezza dei farmaci. Lo studio di modelli statistici per l'analisi della disproporzionalità mira a identificare con maggiore precisione le nuove associazioni tra farmaci e ADR. Pertanto, i contributi su questo argomento sono preziosi perché possono aiutare le autorità di farmacovigilanza, gli istituti di ricerca o le aziende farmaceutiche a identificare al meglio le nuove associazioni tra farmaci e reazioni avverse. In questa tesi si presentano, pertanto, alcuni contributi nell'area della statistica applicata alla farmacovigilanza. L'obiettivo è identificare, attraverso l'analisi dei dati relativi ai bambini presenti in un database di farmacovigilanza spontaneo, le associazioni statisticamente significative tra la somministrazione di un farmaco e la comparsa di un ADR nei pazienti pediatrici. In particolare, ci si è concentrati sull'applicazione del modello *Regression-adjusted gamma-Poisson shrinkage* (RGPS) (DuMouchel & Harpaz, 2012), che produce misure di disproporzionalità corrette per l'età. I risultati ottenuti suggeriscono che il modello RGPS seleziona i segnali con maggiore precisione rispetto ad altri modelli più frequentemente utilizzati in letteratura, in particolare quando si correggono le stime per l'età. Ciò sottolinea l'importanza dell'utilizzo di modelli corretti per l'età nella farmacovigilanza pediatrica, al fine di migliorare il monitoraggio della sicurezza dei farmaci e il processo decisionale normativo per le popolazioni pediatriche.

La tesi si articola in quattro capitoli. Nel primo capitolo si descriverà il processo di sviluppo e approvazione di un nuovo farmaco, con particolare attenzione alla fase IV di farmacovigilanza e alla sua applicazione per l'identificazione dei segnali nella popolazione pediatrica. Il secondo capitolo fornirà alcune informazioni sul sistema di segnalazione spontanea con una descrizione dettagliata del *FDA Adverse Event Reporting System* (FAERS), soffermandosi sulla sua evoluzione nel corso degli anni, sull'organizzazione dei dati in esso contenuti e sul suo utilizzo. Il terzo capitolo esporrà alcuni metodi in uso per l'identificazione dei segnali di associazione fra un determinato farmaco e una determinata reazione avversa, suddividendoli in metodi frequentisti, come il *Proportional Reporting Ratio* (PRR), il *Reporting Odds Ratio* (ROR), il *Reporting Odds Ratio* aggiustato (RORadj) e in metodi bayesiani empirici, quali il *Gamma-Poisson Shrinkage model* (GPS). In particolare ci si soffermerà sulla descrizione dell'algoritmo RGPS, di

---

maggiore interesse in questo lavoro. Il quarto capitolo si concentrerà sull'applicazione e sul confronto in termini di accuratezza, percentuale di segnali individuati, stima puntuale e ampiezza dell'intervallo di confidenza dei metodi di disproporzionalità esposti al terzo capitolo, con particolare focus sui risultati ottenuti dal modello RGPS e ai miglioramenti che apporta nell'individuazione dei segnali nella farmacovigilanza pediatrica. Seguono, infine, le considerazioni finali sull'analisi svolta e sui risultati ottenuti, sui limiti e sulle possibili prospettive future.



# Capitolo 1

## La farmacovigilanza

I farmaci svolgono un ruolo fondamentale nella pratica medica, contribuendo al trattamento e alla prevenzione di molte patologie. Tuttavia nessun farmaco è esente dal rischio di provocare danni all'organismo umano e di conseguenza i medicinali immessi sul mercato devono essere costantemente sorvegliati. Si è così sviluppata la farmacovigilanza, il cui obiettivo è quello di aumentare le conoscenze sui medicinali e definire in maniera più dettagliata la loro sicurezza d'uso sulla base di dati reali. Il termine farmacovigilanza è stato proposto nella metà degli anni '70 da un gruppo di farmacologi e tossicologi francesi per definire la loro attività di valutazione del rischio di effetti indesiderati potenzialmente associati al trattamento farmacologico e per assicurare un rapporto rischio-beneficio favorevole alla popolazione (Bégaud et al., 1994). Successivamente nel 2002, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) definì ufficialmente la farmacovigilanza come “la scienza e le attività collegate all'identificazione, valutazione, conoscenza e prevenzione delle reazioni avverse o di altri problemi collegati ai farmaci” (Giandomenico & Bonati, 2009).

È stato stimato che il 5% degli accessi in ospedale sono dovuti a reazioni avverse ai farmaci (ADR, *Adverse Drug Reaction*), che il 5% di tutti i pazienti già ricoverati in ospedale presenta una ADR e che queste sono al quinto posto tra le cause di morte in ospedale (AIFA, 2023b). Pertanto, si è reso sempre più necessario intervenire sulle normative in vigore al fine di promuovere e proteggere la salute pubblica riducendo il numero e la gravità delle reazioni avverse ai farmaci. La normativa europea, ad esempio, è stata modificata con l'adozione nel 2010, del Regolamento UE 1235/2010 e della Direttiva 2010/84/UE, con l'intento di aumentare l'efficacia, la rapidità e la trasparenza degli interventi di farmacovigilanza.

Questo capitolo ha lo scopo di fornire una descrizione del processo di sviluppo e approvazione di un nuovo farmaco, con particolare attenzione alla sorveglianza degli

effetti avversi dopo la sua commercializzazione, evidenziando l'importanza, gli obiettivi e i limiti dell'utilizzo della farmacovigilanza nel monitorare i farmaci in commercio.

## 1.1 Le fasi di sviluppo dei farmaci

Per garantire la sicurezza e l'efficacia dei farmaci, il processo di scoperta e sviluppo di un nuovo farmaco (*drug discovery and development*) prevede accurati studi farmacologici e tossicologici, suddivisi in diverse fasi. Essi sono orientati a una migliore comprensione delle proprietà del farmaco e a quantificare il rapporto tra gli eventuali rischi e benefici che se ne traggono dalla sua assunzione. Queste ricerche sono condotte inizialmente in laboratorio in vitro o su cavie animali, e successivamente, solo se gli studi precedenti hanno condotto a risultati positivi, si procede a test sull'uomo. Generalmente, l'intero processo è a carico del "proprietario" del farmaco (tipicamente l'industria farmaceutica) e la sua durata può estendersi anche oltre i dieci anni (Brown et al., 2021). Le linee guida per lo sviluppo di un nuovo farmaco sono stabilite e concordate dalle due principali agenzie regolatorie: la FDA (*Food and Drug Administration*), responsabile della valutazione e della regolamentazione dei farmaci negli Stati Uniti, e l'EMA (*European Medicines Agency*), responsabile per quanto riguarda l'Unione Europea. Esse hanno il compito di controllare il processo di sviluppo di un farmaco, autorizzare la sua messa in commercio ed eventualmente ritirarlo dal mercato qualora gli effetti avversi siano maggiori dei benefici oppure quando il medicinale non presenti la stessa efficacia accertata al momento dell'autorizzazione (Gatta & Garattini, 2022). Sebbene la complessità di ciascuna operazione possa differire, sia la FDA che l'EMA concordano sulle seguenti fasi da seguire per lo sviluppo e l'approvazione di un nuovo farmaco. Inizialmente vi è l'identificazione e la progettazione di un principio che mostri un potenziale trattamento per una certa patologia (fase di *discovery*), successivamente si eseguono studi "in vitro" e "in vivo" sugli animali (sperimentazione preclinica) e studi di fase I, II e III sull'uomo (sperimentazione clinica), infine, solo se sono state superate con successo le sottofasi della ricerca clinica, vi è la fase IV (*post-marketing*) di approvazione del farmaco e sorveglianza post-commercializzazione. In media, solo 5 su circa 4.000 farmaci studiati in laboratorio passano alla sperimentazione clinica, mentre solo 1 farmaco su 5 studiati sui pazienti viene autorizzato e prescritto (Shalini, 2022). In Figura 1.1 si può notare una sintesi delle fasi di sviluppo di un nuovo farmaco, mentre di seguito se ne propone una descrizione più approfondita.

1. **Fase di *discovery*.** Si tratta di una serie di studi preliminari che prevedono

Fase	Campione	Obiettivo	Durata
<b>Studi preclinici</b>	Ambiente di laboratorio (colture cellulari e animali)	Stabilire le caratteristiche chimiche e fisiche del farmaco e valutarne la sicurezza e gli effetti in organismi viventi	2-6,5 anni
<b>Studi clinici</b>	<b>I</b> 20-80 volontari sani	Stabilire la sicurezza del farmaco con somministrazione di dosi differenti	1,5 anni
	<b>II</b> 100-300 soggetti affetti o che potrebbero sviluppare la patologia in studio	Stabilire l'efficacia e il range di dosaggio del farmaco e identificare gli effetti collaterali	2 anni
	<b>III</b> 300-3.000 soggetti affetti dalla patologia in studio	Ottenere ulteriori informazioni sull'efficacia e sugli effetti collaterali del farmaco non rilevati nell'ambito delle fasi I e II. Confrontare il farmaco con farmaci esistenti, con un placebo o entrambi	3,5 anni
<b>Valutazione da parte della FDA o EMA dei risultati ottenuti negli studi precedenti</b>		Stabilire se il farmaco abbia dimostrato di essere sufficientemente sicuro ed efficace	0,5-1 anno
<b>Post-marketing</b>	Tutti i soggetti trattati con il farmaco	Rilevare eventuali eventi avversi non insorti durante le fasi I, II e III, come disturbi a esordio tardivo o eventi rari	Continuo

FIGURA 1.1: Fasi di progettazione e sviluppo di un farmaco. Fonte: Shalini (2022).

l'identificazione delle alterazioni biochimiche e cellulari causate da una certa patologia (potenziale bersaglio farmacologico), ad esempio una proteina difettosa, un segnale biochimico mal funzionante o un legame molecolare alterato. Una volta individuato il bersaglio farmacologico, si procede con l'individuazione di sostanze (principi attivi) in grado di legarsi a esso in modo specifico e selettivo con lo scopo di prevenire o correggere tali alterazioni. Questa fase implica un lavoro multidisciplinare di ricerca di biologi, chimici e farmacologi e può durare anni in quanto il numero potenziale di possibili composti biochimici che potrebbero essere utilizzati come farmaci è estremamente ampio (Menichincheri, 2010).

2. **Sperimentazione preclinica.** In seguito all'identificazione e alla progettazione di un farmaco che mostri un potenziale trattamento per una determinata patologia, vi è lo studio delle possibili risposte a tale farmaco. Esso si sviluppa in due sottofasi (Gatta & Garattini, 2022):

- (a) *Test in vitro.* Si eseguono esperimenti in laboratorio su cellule coltivate in vitro, dove si riesce a simulare, almeno in parte, la malattia e il modo in cui si intende curarla. Questi risultati sono però indicativi, in quanto bisogna considerare che tali cellule non sono rappresentative della varietà cellulare

presente in un tessuto malato e, essendo in coltura, non vi sono interazioni con altre cellule dell'organismo che possono condizionarne il comportamento.

- (b) *Test in vivo*. I risultati ottenuti dai test in vitro non corrispondono alla risposta del farmaco per un organismo completo. Per questo si eseguono test su organismi interi, come ad esempio gli animali, che possono ospitare una malattia simile a quella dei pazienti.

Gli studi preclinici forniscono informazioni sul meccanismo d'azione di un farmaco, sulla sua efficacia e sugli eventuali effetti tossici. Durante questa fase, che può durare dai due ai sei anni circa, molti farmaci vengono bocciati per l'inefficacia o l'elevata tossicità.

3. **Sperimentazione clinica.** Sebbene la ricerca preclinica risponda a domande fondamentali sulla sicurezza di un farmaco, non sostituisce gli studi sulle modalità di interazione del farmaco con il corpo umano. La ricerca clinica pertanto si riferisce a studi o sperimentazioni condotti su persone. Se dagli studi preclinici un farmaco si dimostra promettente, i ricercatori redigono un piano di studio specifico, chiamato protocollo di ricerca, che deve essere approvato dal Comitato Etico (CE) e dalla FDA (o EMA). Se la domanda viene approvata, tale farmaco può essere testato su soggetti umani (FDA, 2019). Lo studio clinico ha l'obiettivo di valutare le caratteristiche relative alla qualità, sicurezza ed efficacia del nuovo farmaco attraverso tre sottofasi, diverse a seconda del numero e tipologia di pazienti arruolati nello studio, della durata e dell'obiettivo.

- (a) *Fase I*: ha inizio la sperimentazione del principio attivo sull'uomo con lo scopo di fornire una prima valutazione della sicurezza e tollerabilità del medicinale. Questa fase può durare diversi mesi e prevede la somministrazione di quantità diverse di farmaco (decise sulla base dei dati ottenuti nella sperimentazione preclinica) a un ridotto gruppo di volontari giovani sani o soggetti gravemente malati, come nel caso delle sperimentazioni su farmaci oncologici. L'obiettivo è di stabilire la dose alla quale si manifestano i primi segni di tossicità e di valutare la modalità di azione e distribuzione del farmaco nell'organismo (Van Norman, 2016). Solo se il farmaco dimostra di avere un livello di tossicità accettabile, le successive fasi della sperimentazione possono procedere.
- (b) *Fase II*: si indaga l'attività terapeutica del potenziale farmaco, ossia l'effetto prodotto dal farmaco sulla patologia di interesse. In questo caso la durata



del processo varia da alcuni mesi a due anni e si coinvolgono dai 100 ai 300 soggetti affetti dalla patologia. Viene eseguito quindi uno studio controllato, in cui ai pazienti si somministrano diverse quantità di farmaco con l'obiettivo di esplorarne l'efficacia, continuando comunque a considerarne la sicurezza (AIFA, 2023a).

- (c) *Fase III*: si valuta il farmaco in un campione di soggetti affetti dalla patologia target molto più esteso (300-3.000 soggetti), selezionati secondo criteri di inclusione ed esclusione in modo tale da rendere il campione quanto più simile ai soggetti che potrebbero farne uso nel mondo reale (Shalini, 2022). In questa fase si esegue uno studio randomizzato controllato, in cui una parte dei pazienti riceve il farmaco in esame, mentre l'altra parte dei pazienti (gruppo di controllo) riceve un trattamento di confronto che può essere un placebo o una terapia considerata lo standard farmacologico. L'obiettivo è di rilevare eventuali nuovi effetti collaterali e valutare ulteriormente l'efficacia del farmaco non solo sulla base del trade-off fra qualità, sicurezza ed efficacia, ma anche sulla base del valore terapeutico aggiunto.

Le fasi sopra descritte di sviluppo di un nuovo farmaco seguono l'approccio standard descritto dalle autorità di farmacovigilanza. Tuttavia, al giorno d'oggi, con lo sviluppo della medicina e l'utilizzo di procedure alternative (quali studi *basket* o *umbrella*, tipicamente utilizzati in oncologia) è possibile ridurre i costi e la durata della fase di sperimentazione clinica (Park et al., 2020).

4. **Fase IV**. Una volta che il nuovo farmaco ha superato con successo le sottofasi della ricerca clinica e sono state raccolte sufficienti informazioni a favore della sua sicurezza ed efficacia, l'azienda farmaceutica presenta alla FDA (o EMA) una richiesta di approvazione (*New Drug Application, NDA*). Essa include i dati provenienti dalle sperimentazioni sugli animali e sull'uomo, le procedure di fabbricazione del farmaco previste, le informazioni prescrittive e l'etichetta del prodotto. L'ente governativo esamina (fase di *Review*) tutte le informazioni a disposizione e decide se il farmaco è sufficientemente sicuro ed efficace per l'immissione sul mercato. In caso di approvazione, il farmaco diventa disponibile a scopo terapeutico.

Successivamente alla commercializzazione del medicinale, ha inizio la fase di *post-marketing*, il cui ruolo consiste nella continua sorveglianza della sua sicurezza. Il produttore del farmaco, come anche i medici, infatti, devono monitorarne l'uso e riferire tempestivamente alla FDA (o EMA) eventuali effetti collaterali nuovi precedentemente non rilevati. Tale processo di vigilanza è importante in quanto

permette di acquisire ulteriori e nuove informazioni sia per quanto riguarda l'efficacia del farmaco nel mondo reale (ossia al di fuori di uno studio clinico controllato), sia per la valutazione delle reazioni avverse più rare, ossia quelle che negli studi clinici non potevano emergere, ma che con l'utilizzo del farmaco sulla popolazione possono diventare rilevabili.

### 1.1.1 L'importanza della fase IV (*Post-marketing*)

Nonostante le rigorose fasi del processo di sviluppo di un farmaco, esistono dei limiti. Anche se gli studi clinici forniscono importanti informazioni sull'efficacia e sulla sicurezza di un farmaco, è inverosimile ottenere indicazioni complete sulla sua sicurezza al momento dell'approvazione (FDA, 2019). Infatti, gli studi effettuati durante la fase di sperimentazione clinica sono disegnati per dimostrare l'efficacia del medicinale su una popolazione selezionata (tramite i criteri di inclusione ed esclusione dei pazienti), non sempre rappresentativa della popolazione che sarà esposta al trattamento dopo la sua commercializzazione. Inoltre, bisogna considerare che la sensibilità a un farmaco dipende da numerosi fattori che possono intervenire nel meccanismo di risposta, come l'assetto genetico e la presenza di altre patologie. Tuttavia, a causa dell'esigua numerosità del campione di soggetti in studio non è possibile tenere conto di ciò, come non è possibile rilevare reazioni avverse rare, tardive e/o legate a un'assunzione cronica del medicinale.

Pertanto, il profilo di rischio di un prodotto si evolve nel corso dei mesi e degli anni da quando è presente nel mercato ed è per questo che si rende necessario un sistema di sorveglianza attiva volto a verificare se il rapporto rischio-beneficio varia nel tempo: la farmacovigilanza.

Come quanto riportato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO, 2002), i principali obiettivi della farmacovigilanza sono:

- migliorare e allargare le informazioni su reazioni avverse da farmaci e vaccini (ADR) già note;
- identificare i fattori di rischio predisponenti la comparsa di sospette reazioni avverse a farmaci nella popolazione (ad esempio età, sesso, dosaggio, patologie concomitanti, interazioni farmacologiche);
- confrontare i profili di sicurezza di farmaci appartenenti alla stessa categoria terapeutica;
- riconoscere tempestivamente possibili segnali d'allarme che si generano quando viene evidenziato un rischio non noto in precedenza, oppure quando aumenta la

frequenza o la gravità di un rischio noto, oppure quando si identifica un nuovo gruppo di soggetti a rischio;

- stimare l'incidenza delle sospette reazioni avverse a farmaci;
- promuovere la comprensione, l'educazione e la formazione clinica in materia di farmacovigilanza e la sua comunicazione efficace al pubblico.

### 1.1.2 Le reazioni avverse ai farmaci (ADR)

Tra gli obiettivi principali della farmacovigilanza, vi è l'identificazione delle possibili reazioni avverse nella popolazione associate a un farmaco in commercio. L'Organizzazione Mondiale della Sanità descrive la reazione avversa ad un farmaco come “una reazione sensibilmente dannosa o spiacevole, non intenzionale, risultante da un intervento correlato all'uso di un medicinale” (WHO, 2002). Dal 2012, tale definizione venne ripresa ed estesa dall'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA), includendo anche le reazioni avverse che possono derivare dall'uso di un farmaco all'interno o al di fuori dei termini dell'autorizzazione all'immissione in commercio, ad esempio l'uso improprio o l'abuso, il sovradosaggio, l'utilizzo *off-label* (si veda Paragrafo 1.3) e gli errori terapeutici.

Una reazione avversa è caratterizzata dal fatto che si sospetta una relazione causale tra un medicinale e un evento. In questo contesto ogni volta che si sospetta che il farmaco usato possa aver causato un effetto non voluto (anche se non vi è la certezza), va segnalato il sospetto che sussista una relazione causa-effetto tra l'assunzione del farmaco e il manifestarsi della reazione avversa (Ministero della salute, 2002). Riconoscere quanto prima le nuove ADR, permette di fornire un segnale (allarme) precoce, che innesca una serie di studi volti a verificare se sussista una relazione causa-effetto.

Occorre inoltre sottolineare come le ADR abbiano un forte impatto negativo sulla società, sia in termini di salute dei pazienti che di costi sanitari: è stato stimato che il costo sociale derivante dalle ADR in tutta la comunità europea si aggiri attorno ai 79 miliardi di euro l'anno (Lombardi, 2016). Pertanto, la farmacovigilanza consente di ridurre l'impatto sociale delle ADR sia migliorando il benessere dei pazienti, sia ottimizzando le spese sanitarie.

## 1.2 La segnalazione spontanea

Il sistema di segnalazione spontanea, nato negli Stati Uniti e nel Regno Unito nei primi anni '60, è ora utilizzato in quasi tutto il mondo e rappresenta il punto di partenza per il controllo dei farmaci dopo la loro immissione sul mercato. Esso è uno strumento

semplice, pratico ed economico applicabile a tutte le tipologie di pazienti e a tutti i farmaci, che consente di rilevare potenziali segnali di allarme (ADR) e di sorvegliare contemporaneamente tutti i farmaci in commercio (Ministero della salute, 2002). Le segnalazioni spontanee notificate sono da considerarsi reazioni avverse sospette (*suspected ADRs*), a meno che non siano relazioni di tipo causa-effetto già verificate oppure si dichiarino specificamente di ritenere l'evento non correlato.

Le aziende farmaceutiche hanno l'obbligo di raccogliere costantemente dati sui propri farmaci in commercio e monitorarli attraverso studi di farmacovigilanza. Le agenzie del farmaco hanno, inoltre, sviluppato degli appositi database di segnalazioni spontanee, con l'obiettivo di raccogliere dati *real world*. La FDA gestisce il database FAERS (*FDA Adverse Event Reporting System*) nel quale medici, professionisti sanitari, case farmaceutiche e anche i singoli soggetti che assumono un farmaco possono segnalare un evento avverso. L'EMA invece gestisce *EudraVigilance*, l'equivalente europeo del FAERS. Come suggerito dal nome "database spontanei", tali database hanno un meccanismo di raccolta spontanea dei dati: chiunque può inviare una segnalazione di reazione avversa a un farmaco. Tuttavia proprio questa loro configurazione è la causa principale dei problemi di raccolta dei dati sulla sicurezza dei farmaci.

La prima limitazione, intrinseca nella segnalazione spontanea, riguarda il fatto che non è presente un campione probabilistico sul quale effettuare le analisi, ma solo raccolte di segnalazioni di ADR (tale aspetto verrà discusso in maniera più approfondita nel Capitolo 2). La seconda limitazione riguarda, invece, il problema della sottosegnalazione: la maggior parte delle registrazioni sono inviate da medici o pazienti, tuttavia nessuno è obbligato a segnalare una reazione avversa a un farmaco ed è questo uno dei principali problemi che affliggono la segnalazione spontanea, in quanto è praticamente impossibile stimarne un valore. La sottosegnalazione, infatti, è molto suscettibile a fattori esogeni, che ne rendono ancora più difficoltosa la comprensione, ad esempio il periodo temporale (*Weber effect*) e gli stimoli esterni, come l'opinione pubblica (*Publicity Bias*). Per una maggior comprensione di tali fattori si veda ad esempio l'articolo Belton et al. (1995).

Sebbene l'entità della sottosegnalazione sia ampiamente variabile, è certo che il numero di segnalazioni di eventi avversi costituisce solo una minima percentuale del totale delle ADR verificatesi. Per meglio evidenziare il problema si riportano di seguito due esempi. Negli Stati Uniti, una ricerca condotta nel 1986 nel *Rhode Island* prevedeva che in tale anno in media ogni medico avrebbe dovuto osservare almeno una ADR grave. Tuttavia, nel medesimo anno la FDA, ha ricevuto in totale soltanto 12 segnalazioni ogni 100 medici (Rossi et al., 1988). Nella regione di Bordeaux in Francia, invece, è stato stimato che soltanto 1 su 24 433 ADR viene segnalata al centro regionale di

farmacovigilanza dai medici di medicina generale (Moride et al., 1997).

Nonostante le limitazioni e le difficoltà sopra riportate, il sistema di segnalazione spontanea si è dimostrato essere lo strumento più efficace per l'identificazione delle reazioni avverse ai farmaci sconosciute e clinicamente rilevanti. Le segnalazioni spontanee vengono analizzate attraverso una serie di strumenti noti come analisi di disproporzionalità (Capitolo 3), volti a identificare le associazioni farmaco-evento avverso significative. Tuttavia, anche se nel corso degli anni si sono sviluppati modelli di disproporzionalità più sofisticati, è necessario tener sempre conto delle limitazioni che questa tipologia di dati presentano.

### 1.3 La farmacovigilanza in età pediatrica

Rispetto agli adulti, la popolazione in età pediatrica (da 0 a 21 anni) presenta differenti parametri farmacodinamici e farmacocinetici, comportando reazioni ai farmaci diverse rispetto a quelle riscontrate negli adulti (Giangreco et al., 2022). La popolazione adulta risulta essere un gruppo omogeneo di soggetti, tuttavia in caso di pazienti pediatrici si ha un gruppo eterogeneo di soggetti in vari stadi di sviluppo. Essi, infatti, sono caratterizzati da cambiamenti fisiologici e metabolici durante la crescita (come l'attività enzimatica e i livelli ormonali), da immaturità di alcuni sistemi di organi, da cambiamenti nella massa corporea e da maggiore sensibilità agli eccipienti farmacologicamente attivi. Un esempio rilevante di ciò lo si può riscontrare nell'attività degli enzimi farmaco-metabolizzanti: durante l'ontogenesi si verificano cambiamenti significativi nella loro espressione. In particolare è stato rilevato che gli enzimi citocromo p450, coinvolti nel metabolismo del 70%-80% dei farmaci, variano fino a 100 volte entro la prima settimana di vita (Hines, 2007). Tutto ciò può causare un profondo effetto sull'efficacia terapeutica nel feto e nel bambino, nonché sul rischio di reazioni avverse, influenzando in modo significativo la sicurezza dei farmaci. Gli algoritmi di segnalazione della sicurezza dei farmaci pediatrici, tuttavia, attualmente ignorano queste dinamiche. È pertanto necessario lo sviluppo di farmaci su misura e che l'attività di farmacovigilanza in pediatria sia più mirata (Osokogu et al., 2015).

Come quanto riportato al Paragrafo 1.1, ogni farmaco per ottenere l'autorizzazione all'immissione in commercio deve essere sottoposto a studi approfonditi, al fine di garantirne la sicurezza, l'efficacia e la qualità; spesso però la popolazione pediatrica non rientra in tali studi. Ciò comporta che solo un numero limitato di farmaci sia disponibile per questa fascia d'età e di conseguenza spesso si somministrano a pazienti pediatrici medicinali sviluppati originariamente per pazienti adulti.

Se si considera l'età pediatrica, il rischio di eventi avversi può potenzialmente aumentare (Monni, 2023), in particolare ciò è dovuto a:

- *Esposizione a lungo termine*: la somministrazione di un determinato farmaco per un periodo esteso può comportare effetti sul bambino, quali interferenze nello sviluppo degli organi, nella crescita scheletrica o nello sviluppo neurocomportamentale. Tali effetti possono diventare visibili dopo diversi anni ed è pertanto necessario eseguire follow-up a lungo termine per osservare gli effetti in fasi dello sviluppo distinte.
- *Insufficienza di safety data*: gli studi clinici pediatrici sono limitati a un campione e un periodo di tempo non sufficientemente elevati per l'evidenza statistica. Data la difficoltà di includere pazienti pediatrici nella fase clinica, ne consegue una scarsa conoscenza dei reali rischi e una mancanza di consapevolezza nella somministrazione in pazienti pediatrici (Ceci et al., 2015, Cap. 12).
- *Utilizzo di farmaci off-label*: si intende l'utilizzo di un farmaco per uno scopo medico differente da quello autorizzato e descritto nel Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto (RCP) come, ad esempio, il suo utilizzo per un diverso gruppo di pazienti rispetto a quanto previsto. Pertanto la somministrazione di un farmaco non specifico per la fascia d'età per cui è stato sviluppato può esporre il paziente a ulteriori rischi di eventi avversi o di inefficacia del trattamento. Tuttavia, l'utilizzo di farmaci *off-label* si rende necessario in caso pazienti pediatrici perché rappresenta un'importante opportunità terapeutica, sebbene possa esporre a potenziali effetti collaterali non ancora documentati (Neville et al., 2014).
- *Errore farmaceutico*: a causa della disponibilità limitata di farmaci con indicazione pediatrica o forma farmaceutica appropriata, i pazienti pediatrici possono essere trattati a dosaggi dedotti da pazienti adulti o con forme farmaceutiche inadeguate, causando reazioni avverse non ancora documentate.

Negli ultimi anni la difficoltà nell'utilizzo di farmaci appropriati per l'età pediatrica è diventato sempre più un problema da tenere in considerazione: si stima che gli eventi avversi da farmaci siano responsabili fino al 10% delle ospedalizzazioni pediatriche e al 45% sono pericolosi per la vita dei bambini (Smyth et al., 2012). Per tale motivo sono state sviluppate specifiche norme e regolamenti in questo ambito. Il 26 gennaio 2007 è entrato in vigore nell'Unione Europea il regolamento pediatrico, con l'obiettivo di migliorare la salute dei bambini facilitando lo sviluppo e la disponibilità di farmaci per i bambini di età compresa tra 0 e 18 anni. Tale regolamento mira a garantire

---

che i medicinali per uso pediatrico siano di alta qualità, eticamente ricercati e autorizzati in modo appropriato, migliorando così la disponibilità di informazioni sull'uso dei medicinali per uso pediatrico, evitando in questo modo di sottoporre i bambini a sperimentazioni inutili o ritardi nell'autorizzazione dei farmaci per il loro utilizzo negli adulti (EMA, 2018). La farmacovigilanza in pediatria, pertanto, risulta un valido strumento per il miglioramento del profilo di sicurezza di un farmaco.





# Capitolo 2

## I dati

Come quanto visto al Capitolo 1, in fase di sviluppo di un nuovo farmaco le aziende produttrici sono tenute a svolgere trials clinici (fase di sperimentazione clinica), tuttavia questo non permette di individuare tutte le possibili reazioni avverse ai farmaci. Infatti, alcuni eventi avversi non si osservano alla conclusione di questi studi nei soggetti selezionati oppure il più delle volte avvengono con una frequenza tale da rendere improbabile la loro osservazione durante la fase di sperimentazione clinica. Per questo motivo si rende necessaria una fase di controllo *post-marketing*, con lo scopo di sorvegliare costantemente la sicurezza dei farmaci in commercio. In particolare, in questa fase è fondamentale l'utilizzo dei database di segnalazioni spontanee di ADR al fine di analizzare eventuali associazioni fra un determinato farmaco e un evento avverso e, in caso di presenza di associazione, è possibile il ritiro del farmaco dal mercato o alcune restrizioni sul suo utilizzo. Tra questi database vi è il sistema di segnalazione degli eventi avversi della FDA (FAERS, *FDA Adverse Event Reporting System*). Rispetto agli altri database in uso per la farmacovigilanza il FAERS è disponibile al pubblico: è l'unica grande banca dati spontanea (con segnalazioni statunitensi e non) il cui download è pubblico. L'accesso, invece, a dati di altri database spontanei, come ad esempio l'*EudraVigilance* dell'EMA, è concesso solo a specifiche condizioni. Grazie a questa sua importante caratteristica il FAERS risulta essere uno strumento fondamentale per il monitoraggio della sicurezza dei farmaci in commercio e lo sviluppo di tecniche statistiche utili per la farmacovigilanza.

In questo capitolo si descriverà più dettagliatamente il database FAERS, soffermandosi sulla sua evoluzione nel corso degli anni, sull'organizzazione dei dati in esso contenuti e sul suo utilizzo.

## 2.1 FAERS: *FDA Adverse Event Reporting System*

Il sistema di segnalazione degli eventi avversi della FDA (FAERS) è un database progettato per supportare il programma di sorveglianza della sicurezza *post-marketing* della FDA per i farmaci e i prodotti biologici terapeutici. Lo scopo del FAERS, pertanto, è di raccogliere, analizzare e diffondere informazioni sugli eventi avversi relativi ai farmaci dopo che sono stati approvati dalla FDA e messi a disposizione dei pazienti. Esso, oltre a contenere segnalazioni spontanee di eventi avversi, comprende errori di medicazione e reclami sulla qualità del prodotto che hanno dato luogo a eventi avversi e che sono stati trasmessi alla FDA (Paragrafo 1.2).

Il sistema di segnalazione statunitense ha origine negli anni '60, quando l'FDA iniziò a raccogliere le segnalazioni di reazioni avverse ai farmaci, ma solo nei primi anni '90 il database è stato informatizzato con la creazione del sistema di segnalazione di ADR, denominato AERS (*Adverse Event Reporting System*). Successivamente nel 2004, la FDA ha introdotto il programma *MedWatchPlus (FDA Safety Information and Adverse Event Reporting Program)*, con l'obiettivo di migliorare la raccolta, l'analisi e la diffusione delle informazioni sulla sicurezza dei farmaci. Nell'ambito di questa iniziativa, la FDA ha apportato aggiornamenti significativi al database AERS, tra cui l'aggiunta di nuovi campi di dati. Successivamente, nel 2012, è stata sviluppata una nuova generazione di AERS: il FAERS. Le segnalazioni nel FAERS contengono più informazioni rispetto al precedente database AERS, tra le quali dettagli sull'evento avverso riportato, sul farmaco coinvolto, sul paziente e sulla fonte della segnalazione, consentendo in questo modo analisi più sofisticate dei dati. Questi dati possono includere informazioni demografiche del paziente, come età e sesso, nonché dettagli sulla dose del farmaco, sulla durata dell'uso e sul contesto medico in cui si è verificato l'evento avverso. Il database FAERS è aggiornato trimestralmente e ad oggi (05/03/2024) contiene un totale di segnalazioni di ADR, effettuate da pazienti, familiari, operatori sanitari e case farmaceutiche, superiore ai 28 milioni (FDA, 2023).

In particolare, nel corso degli anni il numero di segnalazioni di reazioni avverse registrate all'interno del database FAERS è aumentato esponenzialmente (Figura 2.1), evidenza dei progressi in ambito della farmacovigilanza e di come essa abbia avuto sempre più un maggiore impatto sulla salute pubblica. Si osserva che il numero di segnalazioni di eventi avversi varia a seconda della professione del Reporter o colui o colei che ha inviato la segnalazione alla FDA o al produttore (il quale ha poi inoltrato la richiesta alla FDA): gli operatori sanitari (medici, farmacisti, infermieri e altro personale medico) effettuano un numero maggiore di segnalazioni, seguiti dagli stessi consumatori

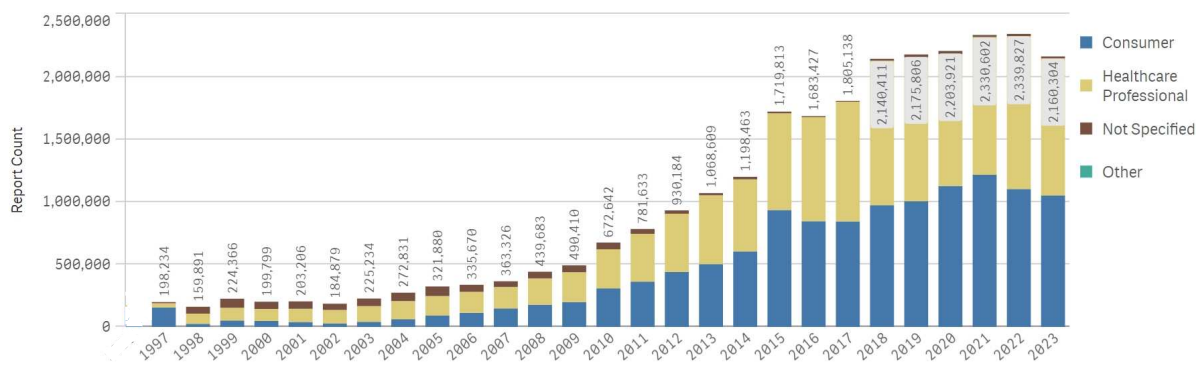


FIGURA 2.1: Numero di segnalazioni annue presenti nel FAERS dal 1997 al terzo trimestre del 2023, secondo la professione della persona che ha effettuato la segnalazione. Fonte: FDA (2023).

del farmaco (i pazienti).

Bisogna tener presente, però, che le segnalazioni contenute all'interno del FAERS sono sospette reazioni avverse, ossia eventi clinici osservati in seguito all'uso di un medicinale, ma non necessariamente causati da esso (U.S. Department of Health and Human Services et al., 2019). Per questo motivo, le segnalazioni contenute nel FAERS vengono valutate costantemente dai revisori clinici del *Center for Drug Evaluation and Research* (CDER) e del *Center for Biologics Evaluation and Research* (CBER). Quando un potenziale segnale di allarme viene identificato, la FDA procede con un'ulteriore valutazione per determinare se è necessaria un'azione regolatoria, come una comunicazione sulla sicurezza del farmaco o una modifica dell'etichettatura al fine di migliorare la sicurezza del prodotto e proteggere la salute pubblica.

### 2.1.1 La struttura del FAERS

L'*FDA Adverse Event Reporting System* ha una struttura relazionale, ossia tale database è organizzato in diverse tabelle collegate fra loro e raggruppate insieme (Ismail & Akram, 2022). Questa struttura permette di avere informazioni il più possibile complete sia sugli eventi avversi relativi ai farmaci, sia sul paziente, sul farmaco, sul segnalatore e sulle procedure mediche a esso collegati. In questo modo è possibile svolgere un'analisi dettagliata per la valutazione della sicurezza dei farmaci.

Il FAERS è in costante evoluzione, la sua struttura infatti può variare nel tempo per migliorare la raccolta e l'analisi delle segnalazioni di reazioni avverse ai farmaci. A oggi le tabelle presenti nel database sono sette e sono collegate attraverso chiavi primarie e chiavi esterne per consentire la relazione tra le informazioni sul paziente, sul farmaco e sull'evento avverso (Figura 2.2). Oltre alle varie informazioni specifiche per ogni campo di dati, è presente in ogni tabella la chiave primaria `primaryid` che consente

la relazione tra le informazioni contenute nelle varie tabelle. Di seguito si riporta una breve descrizione di tali tabelle che costituiscono la struttura di FAERS (Poluzzi et al., 2012, Cap. 12). Si specifica fra parentesi la denominazione della tabella corrispondente riportata in Figura 2.2.

1. Tabella demografica del paziente (*“Demographic”*): contiene le informazioni sul paziente a cui è stato somministrato il farmaco, quali l’età, il sesso e il paese di residenza.
2. Tabella del farmaco (*Drug*): comprende i dati relativi al farmaco che si ritiene abbia causato uno o più eventi avversi, come il nome commerciale, il dosaggio, la via di somministrazione e il numero di identificazione del lotto.
3. Tabella delle reazioni (*Reaction*): vi è la descrizione degli eventi avversi ai farmaci, codificati utilizzando la terminologia MedDRA (*Medical Dictionary for Regulatory Activities*, Paragrafo 2.1.2), includendo la descrizione dell’evento, la sua gravità e la data di insorgenza.
4. Tabella degli esiti (*Outcome*): registra gli esiti degli eventi avversi, come il recupero, l’ospedalizzazione o il decesso del paziente.
5. Tabella delle fonti del rapporto (*Report Sources*): riporta i dettagli del segnalatore dell’evento avverso, ad esempio le informazioni sul medico che ha segnalato l’evento o il nome dell’azienda farmaceutica che ha prodotto il farmaco.
6. Tabella delle terapie (*Therapy*): include i dettagli sulla terapia, se esistente, con cui il farmaco è somministrato.
7. Tabella con le indicazioni MedDRA (*Indication*): contiene tutti i termini MedDRA codificati per le diagnosi dei farmaci segnalati.

### 2.1.2 La classificazione MedDRA

Gli eventi avversi e gli errori terapeutici presenti all’interno del database FAERS sono codificati utilizzando i termini del *Medical Dictionary for Regulatory Activities* (MedDRA)<sup>1</sup>, consentendo in questo modo una classificazione univoca delle informazioni sugli eventi avversi associati all’uso di prodotti farmaceutici e altri prodotti medici (quali, dispositivi medici e vaccini). Questa terminologia è clinicamente validata, sviluppata e mantenuta da esperti medici internazionali.

---

<sup>1</sup><https://www.meddra.org/>

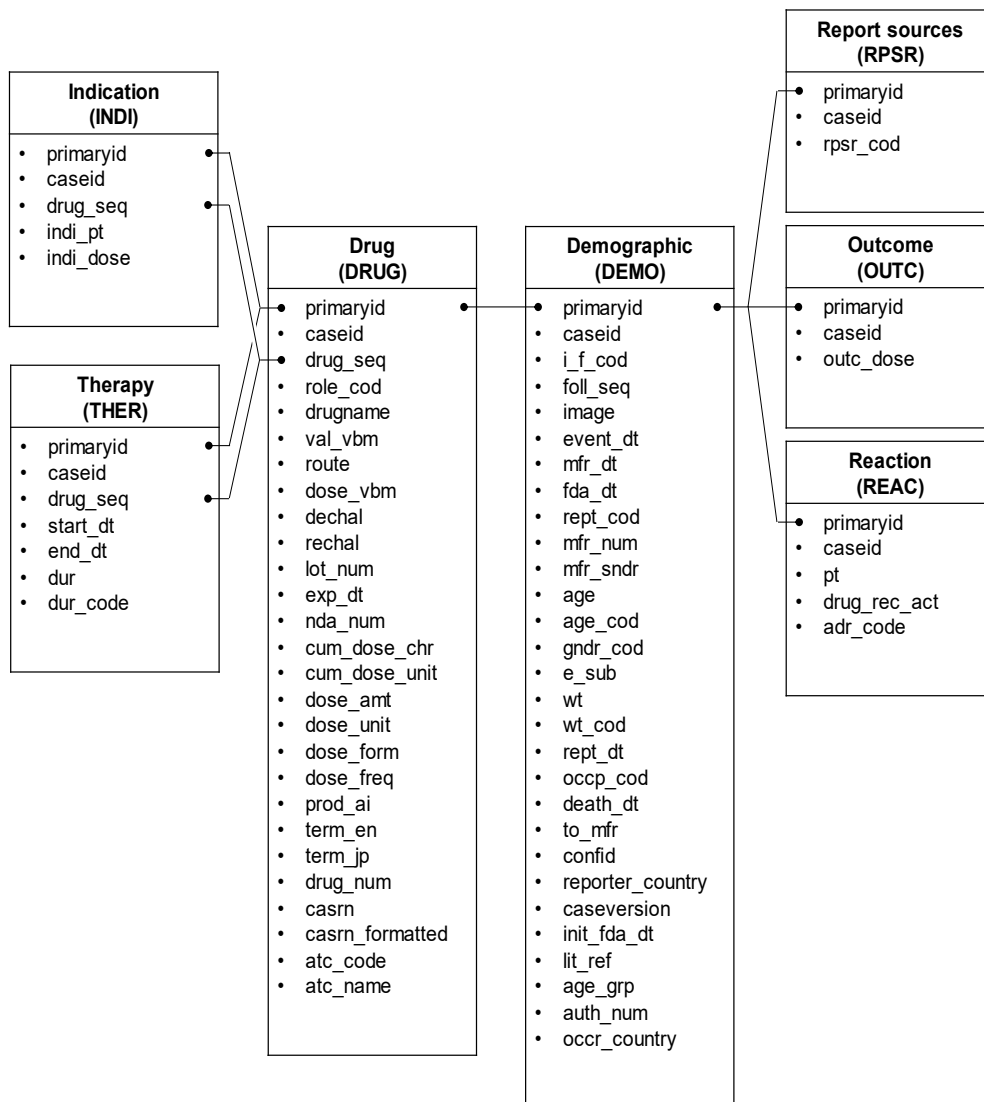


FIGURA 2.2: Struttura relazionale del database FAERS. Fonte: Okunaka et al. (2021).

Il dizionario MedDRA è stato progettato negli ultimi anni '90 dall'*International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use* (ICH), con lo scopo di sviluppare un dizionario terminologico medico standardizzato, ricco di termini e altamente specifico (MedDRA, 2023b), in modo da facilitare lo scambio di informazioni nell'ambito della regolamentazione internazionale per prodotti medicali. Prima dell'avvento di MedDRA non esisteva una terminologia medica comune a livello internazionale e ciò causava diverse problematiche, come la difficoltà a reperire e analizzare i dati disponibili. La terminologia MedDRA a oggi contiene più di 80.000 termini che includono concetti medici, concetti relativi alla sanità e alla regolamentazione riguardanti i prodotti, gli effetti dei dispositivi sulla salute e il loro malfunzionamento (Poluzzi et al., 2012, Cap. 12).

Attualmente, l'uso crescente in tutto il mondo di MedDRA da parte degli enti normativi, delle industrie farmaceutiche, delle organizzazioni di ricerca clinica e dei professionisti della sanità, ha consentito a una migliore protezione globale della salute dei pazienti. Ciò è stato reso possibile grazie anche alla traduzione dei termini presenti in MedDRA in 20 lingue (MedDRA, 2023b): il sistema prevede l'associazione di ogni termine MedDRA a un codice numerico univoco di 8 cifre che rimane invariato nelle varie lingue, senza perdita di informazioni o possibili errori di traduzione da parte del mittente o del destinatario. In questo modo si favorisce l'accuratezza e la precisione nell'assegnazione dei codici e si garantisce un facile scambio di dati a livello internazionale.

La struttura di MedDRA è organizzata in modo gerarchico, articolata in cinque livelli collegati verticalmente tra loro: dal livello più specifico, al livello più generale (MedDRA, 2023a). Il livello più specifico, denominato *Lowest Level Terms* (LLT), comprende più di 80.000 termini che riflettono il modo in cui un'osservazione potrebbe essere riportata nella pratica. Questo livello supporta direttamente l'assegnazione dei termini MedDRA all'interno di un database utente. Ogni LLT è poi collegato a un solo *Preferred Term* (PT) che rappresenta il secondo livello gerarchico dal basso. I *Preferred Term* sono circa 23.000 e definiscono un singolo concetto medico per un sintomo, un segno, una malattia, una diagnosi di malattia, un'indicazione terapeutica, un'indagine, una procedura chirurgica o medica e una caratteristica sociale o familiare. Essi non devono essere ambigui e devono cercare di essere il più possibile specifici, soddisfacendo i requisiti internazionali. Non c'è limite al numero di LLT collegati a un PT, tuttavia un PT deve avere almeno un LLT a esso collegato: se stesso e i propri sinonimi e varianti lessicali (abbreviazioni, ordine diverso delle parole...). I PT sono subordinati agli HLT (*High Level Terms*), nei quali i PT sono raggruppati per anatomia, patologia, fisiologia, eziologia o funzione. Gli HLT, essendo un livello di raggruppamento, non sono utilizzati a livello di codifica, ma solo per recuperare e presentare dati. Con analoghe funzioni di raggruppamento, a un livello ancora più alto ci sono poi gli HLTG (*High Level Group Terms*). Infine, questi ultimi sono raggruppati ulteriormente in *System Organ Classes* (SOC), che rappresentano il livello più alto della gerarchia, quindi il concetto espresso in maniera più generale. Si tratta di 27 raggruppamenti effettuati sulla base dell'eziologia (ad esempio, infezioni e infestazioni), della sede di manifestazione (ad esempio, disturbi gastrointestinali) o dello scopo (ad esempio, procedure chirurgiche e mediche).

Una caratteristica importante delle SOC è la "multiassialità". La multiassialità rende possibile che un singolo concetto medico, rappresentato tramite PT, possa essere raggruppato su più SOC in base a diverse classificazioni (ad esempio, per eziologia o sede di manifestazione), permettendo in questo modo il reperimento e la presentazione

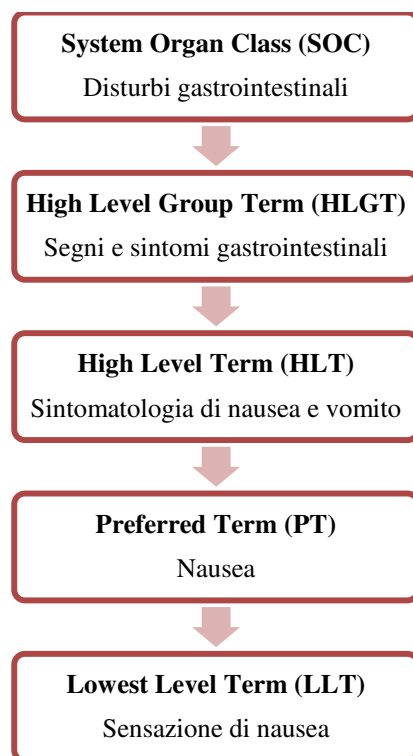


FIGURA 2.3: Esempio di struttura gerarchica di MedDRA.

attraverso diversi set di dati (MedDRA, 2023b). Ad esempio, se si considera il PT “Influenza”, esso fa parte sia del SOC “Patologie respiratorie, toraciche e mediastiniche”, sia del SOC “Infezioni e infestazioni”. In questo caso quando un PT è riferito a più di un SOC, uno tra questi ultimi viene definito SOC primario e rappresenta il termine che appare nelle emissioni cumulative di dati. Nel caso del PT “Influenza” il SOC primario è il SOC “Infezioni e infestazioni”.

In Figura 2.3 si riporta uno schema rappresentante la struttura gerarchica di MedDRA appena descritta, con un esempio di schema di gerarchia di termini che è possibile trovare ad ogni livello.

## 2.2 Il database KidSIDES

I dati presenti all’interno del FAERS sono disponibili pubblicamente alla piattaforma openFDA, tuttavia, il loro utilizzo presenta delle problematiche. Una prima problematica deriva dalla complessità della struttura relazionale del database: le informazioni di una segnalazione non sono in un unico report, ma sono contenute in diverse tabelle che presentano una chiave univoca. Una seconda problematica, invece, è legata

alla codifica dei farmaci: per una singola segnalazione i farmaci sono tutti concatenati in un'unica stringa senza un separatore univoco. Ad esempio, è possibile avere una stringa che si presenta come “(1-743)-(1638- 2332)-BLOOD-COAGULATION FACTOR VIII (SYNTHETIC HUMAN) FUSION PROTEIN WITH IMMUNOGLOBULIN G1 (SYNTHETIC HUMAN FC DOMAIN FRAGMENT), (1444-6’),(1447-9’)-BIS(DISULFIDE) WITH IMMUNOGLOBULIN G1 (SYNTHETIC HUMAN FC DOMAIN FRAGMENT)”, in cui si può notare che non è presente un separatore chiaro e risulta, dunque, impossibile ottenere una lista di farmaci utilizzabile per le analisi (Pham et al., 2019).

Per tali motivazioni si è quindi deciso di utilizzare come database di partenza, il database KidSIDES (Giangreco & Tatonetti, 2022). Il database KidSIDES è stato ottenuto, grazie a una chiave API con permessi estesi, estraendo e formattando tutte le segnalazioni degli eventi avversi, potenzialmente avvenuti dopo la somministrazione di un farmaco, raccolte dalla *Food and Drug Administration Adverse Event System* nel periodo precedente al terzo trimestre del 2019 e riferite a pazienti di età pari o inferiore a 21 anni.

Il lavoro svolto da Giangreco & Tatonetti (2022) per la creazione di questo database è reperibile alla *repository github* “*openFDA\_drug\_event\_parsing*”<sup>2</sup>, mentre il database KidSIDES è liberamente disponibile e consultabile tramite l'applicazione web *PDSportal*<sup>3</sup> o attraverso la libreria R `kidsides`.

Il database è composto da 17 tabelle, che includono informazioni sui farmaci, sugli eventi avversi, sul segnalatore e sul paziente. Al suo interno sono contenute anche informazioni utili per la stima del modello dGAM (*disproportionality Generalized Additive Model*), un recente algoritmo sviluppato da Giangreco e Tatonetti per l'identificazione di associazione fra farmaco ed evento avverso attraverso le fasi di sviluppo del bambino (Giangreco & Tatonetti, 2022).

Per svolgere le analisi presentate in questo elaborato si utilizzeranno i dati presenti nel database KidSIDES e, in particolare, contenuti all'interno della tabella `ade_raw`, denominata come “FAERS pediatrico” nell'articolo Giangreco & Tatonetti (2022), e descritta nel paragrafo seguente.

---

<sup>2</sup><https://doi.org/10.5281/zenodo.4464544>

<sup>3</sup><https://pdsportal.shinyapps.io/pdsportal/>



### 2.2.1 Analisi esplorative

La tabella `ade_raw`, presente all'interno del database KidSIDES, contiene più di due milioni di segnalazioni (2 326 383 reports) di eventi avversi di soggetti con età inferiore o pari ai 21 anni. L'unità statistica, in questo caso, è la segnalazione, per cui se un soggetto ha avuto più reazioni avverse a un determinato farmaco si considerano report distinti, uno per ogni coppia farmaco-evento avverso. Analogamente se un soggetto ha assunto più farmaci e sviluppato una sola reazione avversa si ha un report per ogni coppia farmaco-evento avverso.

Le informazioni di interesse sono reperibili nelle prime sei colonne della tabella `ade_raw`, delle quali di seguito è riportata la descrizione.

1. `Safetyreportid`. Variabile qualitativa che riporta il codice numerico identificativo del soggetto a cui si riferisce la segnalazione;
2. `Ade`. Variabile qualitativa indicante l'identificativo della coppia farmaco-evento avverso (formato come: CodiceFarmaco\_CodiceEventoAvverso);
3. `Atc_concept_id`. Variabile qualitativa che riporta il codice numerico identificativo del farmaco;
4. `Meddra_concept_id`. Variabile qualitativa riferita al codice numerico identificativo dell'evento avverso;
5. `Nichd`. Variabile categoriale a 7 livelli indicante la classe d'età di appartenenza del soggetto a cui fa riferimento la segnalazione. Il valore dell'età del soggetto prima è stato standardizzato in unità di anno e successivamente è stato categorizzato nelle sette fasi di sviluppo infantile secondo l'*Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child and Human Development* (Williams et al., 2012): *Term neonatal* (periodo neonatale, da 0 a 1 mese), *Infancy* (infanzia, da 2 mesi a un anno compreso), *Toddler* (età prescolare, da un anno a 2 anni compresi), *Early childhood* (prima infanzia, da 2 anni a 5 anni compresi), *Middle childhood* (infanzia intermedia, da 5 anni a 11 anni compresi), *Early adolescence* (prima adolescenza, da 11 anni a 18 anni compresi), *Late adolescence* (tarda adolescenza, da 18 anni a 21 anni compresi);
6. `Sesso`. Variabile qualitativa a due livelli riferiti al sesso del segnalatore (*Femmina*, *Maschio*);

In questo dataset non sono disponibili ulteriori informazioni per quanto riguarda l'etnia e altri fattori socioeconomici.

TABELLA 2.1: Statistiche riassuntive (frequenza assoluta e percentuale) delle segnalazioni presenti nel database KidSIDES.

<b>Variabile</b>	<b>n (%)</b>
Segnalazioni ( <i>reports</i> )	2 326 383
Soggetti	264 444
Coppie farmaco-evento avverso	460 831
Farmaci	1 088
Eventi avversi	10 770
Sesso	
Maschio	124 577 (47.1)
Femmina	139 867 (52.9)
Soggetti per classe d'età	
Periodo neonatale	6 185 (2.3)
Infanzia	13 689 (5.2)
Età prescolare	10 432 (3.9)
Prima infanzia	22 063 (8.3)
Infanzia intermedia	53 045 (20.2)
Prima adolescenza	104 747 (39.6)
Tarda adolescenza	54 283 (20.5)

Più del 90% delle coppie farmaco-evento avverso riportate in questo database ha un numero di reports pari o inferiore a 10. Una breve analisi esplorativa delle informazioni contenute all'interno del database sopra descritto è riportata in Tabella 2.1. Si osserva, in particolare, che ci sono 264 444 soggetti in età pediatrica che hanno effettuato almeno una segnalazione di reazione avversa. Le coppie uniche farmaco-evento presenti nell'arco di tre decenni sono 460 831, riferite a 1 088 distinti farmaci e 10 770 distinti eventi avversi. Infine, si può notare come la maggior parte delle segnalazioni riguardi soggetti di sesso femminile (52.9%) e appartenenti alla classe d'età riferita alla prima adolescenza (39.6%).

## 2.3 *GRiP reference set*

Negli ultimi 50 anni, il monitoraggio della sicurezza dei farmaci si è sviluppato rapidamente in termini di innovazione dei metodi e disponibilità dei dati. Tuttavia, questa evoluzione si è concentrata maggiormente sulla popolazione adulta rispetto che alla popolazione in età pediatrica. Per questo motivo in letteratura il numero di segnali individuati e verificati risulta essere inferiore per l'età pediatrica, con la conseguenza di avere a disposizione un ristretto numero database specifici da poter utilizzare come

*reference set* per valutare la performance di individuazione dei segnali tra i metodi di disproporzionalità. Uno tra i più ampi *reference set* che contiene informazioni riguardo a segnali individuati per l'età pediatrica è stato sviluppato dal *Global Research in Pediatrics (GRiP) consortium* (Osokogu et al., 2015).

Il GRiP *reference set* contiene informazioni derivanti dal riassunto delle caratteristiche del prodotto del farmaco (bugiardino), dal sistema di informazione online *Micromedex*<sup>4</sup> e dalla letteratura medica disponibile. Queste informazioni permettono di identificare 1 293 coppie classificate in controlli positivi (presenza di associazione fra farmaco ed evento avverso) e controlli negativi (nessuna associazione fra farmaco ed evento avverso). In particolare, per le coppie che costituiscono il gruppo di controlli positivi è specificato se l'associazione è stata riscontrata nella popolazione adulta, nella popolazione in età pediatrica (età pari o inferiore a 18 anni) o in entrambe. Questa specificazione fa sì che il GRiP *reference set* possa essere utilizzato come database di riferimento negli studi di farmacovigilanza pediatrica al fine di confrontare metodi di disproporzionalità e la loro performance.

In questo elaborato per valutare la performance di individuazione dei segnali dell'algoritmo RGPS confrontato con gli altri metodi descritti al Capitolo 3, si utilizzerà una versione *machine-readable*<sup>5</sup> del database GRiP in modo tale da poter eseguire facilmente le analisi statistiche (Giangreco et al., 2020).

Dopo aver selezionato all'interno del GRiP le sole associazioni positive fra farmaco ed evento avverso riferite all'età pediatrica, sono state individuate  $N = 74$  coppie farmaco-ADR comuni al database KidSIDES. I farmaci unici sono risultati essere 8, mentre il numero di eventi avversi è pari a 37. La descrizione completa delle coppie è riportata in Tabella A.1 presente in Appendice A.

---

<sup>4</sup><http://www.micromedex.com/>

<sup>5</sup><https://doi.org/10.5281/zenodo.4453379>



# Capitolo 3

## I metodi: Analisi di disproporzionalità

I database di segnalazioni spontanee sono fonti primarie di informazioni sulle possibili reazioni avverse ai farmaci da prescrizione, tuttavia l'elevato numero di segnalazioni presenti rende complicata una loro analisi caso per caso. Per questo motivo si esegue preliminarmente un'analisi statistica in grado di identificare gli eventi avversi associati più frequentemente ad alcuni farmaci. Bisogna, però, tenere presente che questi risultati statistici non confermano una relazione causale tra farmaco ed evento avverso, ma solo un'associazione tra essi.

L'idea alla base di qualsiasi applicazione statistica nella farmacovigilanza è basata sul confronto dei tassi di segnalazione tra i vari farmaci: se un farmaco e un determinato evento avverso risultano essere segnalati in numero "sproporzionato" di volte, l'ADR viene segnalata come un potenziale problema di sicurezza. Per tale motivo si parla di analisi di disproporzionalità. Si noti come in questo caso si è utilizzata la terminologia "tassi di segnalazione" e non "tassi di incidenza", poiché quest'ultimi non possono essere calcolati dal momento che non si hanno informazioni riguardo al numero di esposti a ciascun farmaco nella popolazione (Meyboom et al., 1997).

Quando si identifica un'associazione fra un determinato farmaco ed evento avverso, è responsabilità delle autorità di farmacovigilanza indagare su tale associazione utilizzando altre informazioni come, ad esempio, quelle derivanti da precedenti studi clinici. In particolare, la FDA ricorre all'analisi delle serie di casi, che prevede l'analisi dettagliata di singoli casi o serie di casi per comprendere meglio le caratteristiche cliniche di un evento avverso (FDA, 2024). Quando un gruppo di esperti riceve i segnali individuati, li valuta sulla base delle loro conoscenze e redige una lista finale di segnali che viene inviata ai centri di farmacovigilanza nazionali. Questo metodo, tuttavia, comporta delle

distorsioni, in quanto gli esperti sono in grado di considerare un contenuto numero di segnalazioni e, inoltre, la loro conclusione viene tratta dalle proprie conoscenze a priori, che creano una distorsione verso l'identificazione di segnali già sospetti.

Negli anni, quindi, sono stati sviluppati una serie di strumenti per l'analisi della disproporzionalità, atti a individuare le associazioni farmaco–evento avverso significative da sottoporre poi al parere degli esperti per ulteriori indagini. L'obiettivo principale dell'applicazione dell'analisi di disproporzionalità è quello di evitare di identificare falsi positivi e falsi negativi, che causerebbero, rispettivamente, prendere provvedimenti quando non vi è la necessità e non prendere provvedimenti in tempi rapidi quando invece ce ne sarebbe la necessità. È possibile distinguere due famiglie di metodi di disproporzionalità: i metodi frequentisti, come il *Proportional Reporting Ratio* (Evans et al., 2001) e il *Reporting Odds Ratio* (Rothman et al., 2004), e i metodi bayesiani empirici, quali il *Gamma-Poisson Shrinkage* (DuMouchel, 1999) e il *Bayesian Confidence Propagation Neural Network* (Bate & Evans, 2009).

In questo capitolo si fornirà una breve descrizione dei metodi frequentisti e bayesiani già in uso per l'identificazione dei segnali di associazione fra un determinato farmaco e un determinato evento avverso. Successivamente, ci si soffermerà nella descrizione di un modello di recente sviluppo: il *Regression-adjusted Gamma-Poisson Shrinkage model* (DuMouchel & Harpaz, 2012).

### 3.1 Notazione

Il database KidSIDES contiene più di due milioni di reports, in cui ogni report si riferisce a un determinato soggetto, farmaco ed evento avverso e corrisponde a una riga del dataset. In seguito si indicherà con  $n$  il numero di reports (righe). Si noti come il numero  $n$  di reports non coincide né con il numero di soggetti, né con il numero di farmaci o di eventi avversi, in quanto questi possono essere ripetuti un certo numero di volte. Ad esempio, se un soggetto assume un solo farmaco e sviluppa tre distinti eventi avversi, all'interno del database saranno presenti tre report (righe) distinti, aventi lo stesso soggetto e lo stesso farmaco, ma tre differenti eventi avversi.

Sia, inoltre,  $j$  l'indice riferito al farmaco  $j$ -esimo, con  $j = 1, \dots, J$  (in questo caso,  $J = 1\ 088$ ),  $i$  l'indice riferito all' $i$ -esimo report, con  $i = 1, \dots, n$ , e sia  $k$  l'indice riferito all'evento avverso  $k$ -esimo, con  $k = 1, \dots, K$  (in questo caso,  $K = 10\ 770$ ).

Infine, si definiscono due vettori di variabili dicotomiche:  $(X_{i,1}, X_{i,1}, \dots, X_{i,J})$ , indicanti la presenza ( $X_{i,j} = 1$ ) o assenza ( $X_{i,j} = 0$ ) del farmaco  $j$ -esimo nell' $i$ -esimo report e

$(Y_{i,1}, Y_{i,1}, \dots, Y_{i,K})$ , indicanti a presenza o assenza del  $k$ -esimo evento avverso nell' $i$ -esimo report.

## 3.2 Metodi frequentisti: ROR e PRR

I metodi frequentisti più utilizzati e citati in letteratura per valutare l'associazione fra un farmaco e un evento avverso sono il *Proportional Reporting Ratio* (PRR) (Evans et al., 2001) e il *Reporting Odds Ratio* (ROR) (Rothman et al., 2004). Entrambi questi metodi si basano sul numero di segnalazioni e valutano l'incidenza di uno specifico evento avverso associato al farmaco in esame rispetto all'incidenza dello stesso evento rispetto a tutti gli altri farmaci presenti nel database. Il PRR e ROR sono calcolati attraverso tabelle di contingenza  $2 \times 2$  costruite in maniera differente rispetto alle usuali, in quanto non vi sono dei veri e propri controlli, ma si usano come surrogati dei controlli le informazioni degli altri farmaci contenute all'interno dello stesso database di segnalazione (Tabella 3.1).

A partire dalla Tabella di contingenza 3.1, dato un determinato farmaco  $X_j$  e un determinato evento avverso  $Y_k$ , è possibile calcolare i due indicatori sopracitati come

$$\text{PRR} = \frac{n_{11}/(n_{11} + n_{10})}{n_{01}/(n_{01} + n_{00})}, \quad (3.1)$$

$$\text{ROR} = \frac{n_{11}n_{00}}{n_{10}n_{01}}. \quad (3.2)$$

Osservando la Tabella 3.1 e le formule per il calcolo delle due statistiche, è possibile notare che il PRR confronta l'occorrenza di uno specifico evento avverso  $Y_k$  rispetto a tutti gli eventi avversi dovuti al farmaco  $X_j$ , con la stessa occorrenza calcolata con riferimento a tutti gli altri farmaci. Il ROR, invece, confronta l'*Odds Ratio* (OR) di un farmaco  $X_j$  rispetto all'evento avverso  $Y_k$ , con l'OR di tutti gli altri farmaci rispetto allo stesso evento avverso selezionato. Il PRR e ROR hanno, quindi, caratteristiche simili a due misure comunemente usate in epidemiologia: il rischio relativo e l'*odds ratio*, rispettivamente. Analogamente con quanto accade in epidemiologia tra l'*odds ratio* e il rischio relativo in presenza di malattie rare, anche in questo caso quando si è in presenza di eventi avversi rari, è possibile approssimare il ROR al PRR.

Per entrambe le statistiche è possibile ottenere un intervallo di confidenza (IC) che permette di individuare se una coppia farmaco-ADR genera un segnale. In particolare, un farmaco è considerato statisticamente associato a un evento avverso quando l'estremo inferiore dell'intervallo di confidenza corrispondente è maggiore di 1. Poiché sia il

TABELLA 3.1: Tabella di contingenza per un determinato farmaco  $X_j$  e un determinato evento avverso  $Y_k$ .

	Evento avverso $Y_k$	Altri eventi avversi	Totale
Farmaco $X_j$	$n_{11}$	$n_{10}$	$n_{1.}$
Altri farmaci	$n_{01}$	$n_{00}$	$n_{0.}$
Totale	$n_{.1}$	$n_{.0}$	$n$

PRR che il ROR hanno zero come limite inferiore e nessun limite superiore, la loro distribuzione risulta essere asimmetrica e l'intervallo di confidenza è costruito utilizzando un'approssimazione gaussiana del loro logaritmo. Perciò, l'intervallo di confidenza di livello  $\alpha$  per l'indice PRR è

$$IC(\alpha) = \exp \left\{ \log(\text{PRR}) \pm z_{\alpha/2} \sqrt{\frac{1}{n_{11}} + \frac{1}{n_{01}} - \frac{1}{n_{11}+n_{10}} - \frac{1}{n_{01}+n_{00}}} \right\} \quad (3.3)$$

e, in modo analogo, l'intervallo di confidenza di livello  $\alpha$  per l'indice ROR è definito come

$$IC(\alpha) = \exp \left\{ \log(\text{ROR}) \pm z_{\alpha/2} \sqrt{\frac{1}{n_{11}} + \frac{1}{n_{10}} - \frac{1}{n_{01}} - \frac{1}{n_{00}}} \right\}. \quad (3.4)$$

Sebbene questi due indici siano semplici da calcolare e interpretare e siano attualmente utilizzati per l'analisi dei dati spontanei sulla sicurezza dei farmaci, la loro applicazione presenta alcune problematiche. Innanzitutto, le tabelle di contingenza "surrogate" sono fortemente sbilanciate e può accadere che i valori di  $n_{10}$  o  $n_{01}$  siano pari a zero. Valori nulli in queste celle non consentono il calcolo degli indici ROR e PRR, mentre se le frequenze osservate sono particolarmente basse l'approssimazione normale per il calcolo dell'IC viene meno. In secondo luogo, l'assunzione alla base di questi due metodi frequentisti sta nel considerare l'incidenza di un certo evento in un determinato intervallo temporale nel database di segnalazione spontanea come approssimazione dell'incidenza dell'evento nella popolazione, non considerando il problema della sottosegnalazione. Per questi indici si presuppone inoltre che i farmaci abbiano lo stesso profilo di rischio e vengano segnalati con la stessa frequenza, un'ipotesi improbabile dal momento che le segnalazioni sono molto suscettibili a fattori esogeni. Infine, questi indici non permettono di considerare l'interazione tra due farmaci diversi e una singola ADR e la possibile presenza di fattori confondenti e bias di segnalazione, che possono portare all'identificazione di un numero elevato di segnali falsi positivi. Valori del PRR e del ROR elevati, perciò, non implicano necessariamente la rilevazione di un segnale.



### 3.2.1 ROR aggiustato

Come evidenziato nel precedente paragrafo, le statistiche PRR e ROR non tengono conto delle variabili demografiche, possibili fattori di confondimento. Utilizzando un approccio Mantel-Haenszel è possibile ottenere una misura aggiustata per il calcolo del ROR, e in modo analogo per il PRR, che considera le variabili demografiche (Robins et al., 1986).

Supponendo di considerare una variabile demografica con  $S$  strati, sia  $n_s$  il numero di osservazioni rilevate nello strato  $s$ -esimo e siano  $a_s = n_{11_s}$ ,  $b_s = n_{10_s}$ ,  $c_s = n_{01_s}$  e  $d_s = n_{00_s}$ , le quantità definite nella tabella di contingenza specificata per lo strato  $s$ -esimo. Il ROR aggiustato (RORadj) è definito come

$$\text{RORadj} = \left( \sum_{s=1}^S \frac{a_s d_s}{a_s + d_s + b_s + c_s} \right) \left( \sum_{s=1}^S \frac{b_s c_s}{a_s + d_s + b_s + c_s} \right)^{-1} \quad (3.5)$$

e il corrispondente intervallo di confidenza di livello  $\alpha$  risulta essere

$$\text{IC}(\alpha) = \exp \left\{ \log(\text{RORadj}) \pm z_{\alpha/2} \sqrt{V} \right\}, \quad (3.6)$$

dove

$$V = \frac{\sum_{s=1}^S \frac{a_s + d_s}{n_s} \frac{a_s d_s}{n_s}}{2 \left( \sum_{s=1}^S \frac{a_s d_s}{n_s} \right)^2} + \frac{\sum_{s=1}^S \left( \frac{a_s + d_s}{n_s} \frac{b_s c_s}{n_s} + \frac{b_s + c_s}{n_s} \frac{a_s d_s}{n_s} \right)}{2 \sum_{s=1}^S \frac{a_s d_s}{n_s} \sum_{s=1}^S \frac{b_s c_s}{n_s}} + \frac{\sum_{s=1}^S \frac{b_s + c_s}{n_s} \frac{b_s c_s}{n_s}}{2 \left( \sum_{s=1}^S \frac{b_s c_s}{n_s} \right)^2}. \quad (3.7)$$

Sebbene questa misura tenga conto delle possibili variabili di confondimento, alcune delle problematiche esistenti per le misure ROR e PRR permangono, come il forte sbilanciamento della tabella di contingenza “surrogata”. Per questo motivo sono stati sviluppati i metodi bayesiani, al fine di ottenere stime più conservative quando si è in presenza di frequenze osservate basse.

## 3.3 Metodi Bayesiani: *Gamma-Poisson Shrinkage model*

Tra i metodi per l'analisi di disproporzionalità sono presenti anche metodi che usano un approccio bayesiano, con l'obiettivo di ridurre lo sbilanciamento presente nelle tabelle di contingenza costruite per il calcolo del ROR e PRR, mantenendo l'interpretabilità del rischio relativo.

Un modello bayesiano fra i più utilizzati è il modello *Gamma-Poisson Shrinkage* (GPS) (DuMouchel, 1999), che si basa sulla quantità denominata *relative reporting rate* (RR)

$$\text{RR}_{jk} = N_{jk}/E_{jk}, \quad (3.8)$$

dove  $N_{jk}$  indica la frequenza con cui il farmaco  $j$  è riportato per l'evento avverso  $k$ -esimo, mentre  $E_{jk}$  indica la frequenza attesa (*baseline frequency*) sotto ipotesi di indipendenza fra il farmaco  $j$  e l'evento avverso  $k$ -esimo. Sotto questa ipotesi di indipendenza il valore  $E_{jk}$  è pari a

$$E_{jk} = Pr(X_j = 1)Pr(Y_k = 1)n = N_j.N_k/n. \quad (3.9)$$

La quantità 3.8 risulta facilmente interpretabile: deviazioni maggiori di 1 indicano presenza di associazione fra il farmaco  $X_j$  e l'evento avverso  $Y_k$  di interesse, in quanto la frequenza osservata è maggiore di quella attesa sotto l'ipotesi di indipendenza. Tuttavia il *relative reporting rate* applicato ai dati di farmacovigilanza è estremamente variabile quando si hanno basse frequenze attese e osservate. Per esempio, i valori  $N_{jk} = 1$ ,  $E_{jk} = 0.001$  hanno un'interpretazione statistica molto diversa rispetto a  $N_{jk} = 100$ ,  $E_{jk} = 0.1$ , anche se entrambi portano ad avere  $\text{RR} = 1000$ .

Al fine di individuare segnali significativi mantenendo l'interpretabilità del *relative reporting rate*, ma cercando anche di aggiustare per la varianza di campionamento, DuMouchel sviluppò il modello GPS (DuMouchel, 1999), assumendo una distribuzione parametrica dell'RR.

Nel modello GPS si assume che la frequenza  $N_{jk}$  sia distribuita come una Poisson di media sconosciuta  $\mu_{jk}$ , dove  $\mu_{jk} = \lambda_{jk}E_{jk}$ . I parametri  $\lambda$  sono costanti moltiplicative su  $E$ :  $\lambda > 1$  comporta  $\text{RR} \gg 1$ , ossia indica che l'evento avverso accade più frequentemente della frequenza attesa, segnalando quindi la presenza di associazione farmaco-evento avverso. I parametri  $\lambda$  non sono costanti non legate fra loro, ma si ipotizzano essere delle estrazioni casuali provenienti da una comune distribuzione a priori, assunta essere una mistura di due distribuzioni Gamma

$$\pi(\lambda; \alpha_1, \beta_1, \alpha_2, \beta_2, P) = g(\lambda; \alpha_1, \beta_1)P + g(\lambda; \alpha_2, \beta_2)(1 - P), \quad (3.10)$$

con  $\alpha_1, \beta_1, \alpha_2, \beta_2 > 0$ ,  $P \in (0, 1)$  e  $g$  densità della distribuzione Gamma.

Inizialmente fu ipotizzata una singola distribuzione a priori Gamma (DuMouchel et al., 1995), tuttavia in seguito è stata scelta la mistura di due distribuzioni Gamma per avere una distribuzione a priori più flessibile, mantenendo la relazione di coniugazione presente fra le distribuzioni Poisson e Gamma. La scelta della distribuzione a priori specificata in 3.10 permette di avere delle semplificazioni nei calcoli:

- le distribuzioni marginali di ogni  $N_{jk}$  sono una mistura di distribuzioni binomiali negative di parametri  $\alpha$  e  $E_{jk}/(\beta + E_{jk})$ ;
- la distribuzione a posteriori di ogni  $\lambda_{jk}$  è una mistura di due distribuzioni Gamma con parametri modificati

$$\begin{aligned} \pi(\lambda_{jk}|N_{jk} = n_{jk}) &= g(\lambda_{jk}; \alpha_1 + n_{jk}, \beta_1 + E_{jk})Q_n \\ &\quad + g(\lambda_{jk}; \alpha_2 + n_{jk}, \beta_2 + E_{jk})(1 - Q_n), \end{aligned} \quad (3.11)$$

dove la stima dei parametri  $\theta = (\alpha_1, \beta_1, \alpha_2, \beta_2, P)$  è ottenuta via massima verosimiglianza e  $Q_n$  è definito come la probabilità a posteriori che  $\lambda_{jk}$  derivi dalla prima componente della mistura, dato  $N_{jk} = n_{jk}$ . Indicando con  $f$  la densità della distribuzione binomiale negativa, dal teorema di Bayes si ottiene

$$Q_n = \frac{Pf(n; \alpha_1, \beta_1, E_{jk})}{Pf(n; \alpha_1, \beta_1, E_{jk}) + (1 - P)f(n; \alpha_2, \beta_2, E_{jk})}. \quad (3.12)$$

Dalla distribuzione a posteriori 3.11, si ottiene il valore atteso a posteriori di  $\lambda_{jk}$  e  $\log(\lambda_{jk})$

$$E(\lambda_{jk}|N_{jk} = n_{jk}) = \frac{\alpha_1 + n_{jk}}{\beta_1 + E_{jk}}Q_n + \frac{\alpha_2 + n_{jk}}{\beta_2 + E_{jk}}(1 - Q_n) \quad (3.13)$$

e

$$\begin{aligned} E(\log \lambda_{jk}|N_{jk} = n_{jk}) &= [\Psi(\alpha_1 + n_{jk}) - \log(\beta_1 + E_{jk})]Q_n \\ &\quad + [\Psi(\alpha_2 + n_{jk}) - \log(\beta_2 + E_{jk})](1 - Q_n), \end{aligned} \quad (3.14)$$

dove la funzione  $\Psi$  è la funzione digamma, derivata di  $\log(\Gamma(x))$ .

Da questi risultati si ottiene la versione bayesiana della statistica  $\log_2 RR$ , definita come

$$\begin{aligned} E\log_2 \lambda_{jk} &= E[\log_2(\lambda_{jk})|N_{jk} = n_{jk}] \\ &= E[\log(\lambda_{jk})|N_{jk} = n_{jk}]/\log 2. \end{aligned} \quad (3.15)$$

Per riportare la quantità  $E\log_2$  sulla stessa scala del  $RR$ , è sufficiente applicare l'esponenziale di base 2. In questo modo si ottiene l'indice  $EBGM$  (*empirical Bayes geometric mean*). Dal momento che la distribuzione di  $\lambda_{jk}$  è nota, è possibile ottenere un intervallo di confidenza (ad esempio di livello  $\alpha = 0.10$ ) per la quantità  $E\log_2 \lambda_{jk}$ . Analogamente a quando accade per il  $ROR$  e  $PRR$ , se il quantile inferiore di tale intervallo risulta essere maggiore di 1, i dati supportano l'ipotesi di associazione fra il farmaco  $j$  e l'evento avverso  $k$ -esimo di interesse. Quando le quantità  $E_{jk}$  o  $N_{jk}/E_{jk}$  non sono grandi, l'effetto

di usare  $E\text{Blog}_{2,jk}$  è quello di restringimento della quantità  $\log_2\text{RR}$  verso valori più bassi, andando in questo modo a ridurre la varianza di campionamento presente quando un farmaco o un evento avverso di interesse non sono riportati frequentemente.

L'indice di associazione ottenuto attraverso il modello GPS può tener conto di possibili variabili di confondimento, come le variabili demografiche, tuttavia questo tipo di aggiustamento è computazionalmente intenso dal momento che la sua implementazione richiede numerosi calcoli dovuti alla massimizzazione della verosimiglianza in 5 dimensioni (Szarfman et al., 2002).

### 3.4 *Regression-adjusted GPS model*

I metodi descritti precedentemente sono quelli prevalentemente usati dalle autorità di farmacovigilanza che si occupano di identificare le reazioni avverse ai farmaci, quali l'EMA e FDA. Ciononostante la ricerca è in costante evoluzione e si stanno sviluppando nuove tecniche di data mining per identificare pattern, cluster o tendenze nei dati di farmacovigilanza al fine di identificare associazioni significative tra farmaci e reazioni avverse all'interno dei grandi database di farmacovigilanza.

Un aspetto importante da tener conto in farmacovigilanza è la politerapia (*polypharmacy*), ossia l'utilizzo simultaneo di più farmaci da parte di un paziente prescritti per la stessa patologia (AIFA, 2015). Questo fenomeno non è colto dagli approcci precedentemente descritti e può comportare fattori di confondimento e potenziali distorsioni statistiche, come il *masking bias*. Questo tipo di distorsioni possono verificarsi nei dati quando l'associazione tra due variabili viene nascosta o mascherata da una terza variabile. Ad esempio nell'ambito della farmacovigilanza può accadere che un farmaco che non è associato all'evento avverso di interesse è co-prescritto con un farmaco associato a tale evento avverso, risultando essere entrambi associati all'evento avverso.

L'algoritmo *Regression-adjusted Gamma-Poisson Shrinkage* (RGPS) è un metodo di disproporzionalità recentemente sviluppato da DuMouchel & Harpaz (2012) che deriva dalla combinazione del modello *Gamma-Poisson Shrinkage* (Paragrafo 3.3) e della regressione logistica applicata ai dati di farmacovigilanza (DuMouchel et al., 2008). Questo nuovo metodo permette di aggiustare per l'effetto dovuto alla politerapia e considerare allo stesso tempo variabili demografiche, intese come possibili confondenti.

Combinando il modello GPS e la regressione logistica, l'RGPS mira a ottenere il meglio da entrambi. Come il modello logistico, l'RGPS è progettato per tenere conto del confondimento dovuto all'utilizzo di farmaci concomitanti. Come il GPS, lo *shrinkage* delle stime indotto dal modello protegge da associazioni farmaco-evento avverso

falsamente positive.

A differenza del modello GPS, però, lo *shrinkage* è stimato separatamente per ogni risposta (evento avverso) ed è più semplice computazionalmente in quanto utilizza un'unica distribuzione a priori Gamma, invece di una mistura di due distribuzioni Gamma. Inoltre, l'RGPS è in grado di calcolare stime anche per i casi in cui il numero di eventi avversi segnalati per un determinato farmaco è pari a zero ( $N_j = 0$ ), non possibile con il modello GPS. In modo simile alla regressione logistica, l'algoritmo RGPS elabora un evento avverso alla volta, per cui il calcolo di ogni evento avverso è indipendente dagli altri ed è possibile sfruttare il calcolo parallelo.

La procedura di implementazione dell'algoritmo RGPS si compone di tre step principali che prevedono una selezione iniziale dei farmaci e la stima del modello logistico, la stima delle frequenze attese a partire dai risultati ottenuti nel modello logistico e il calcolo dei valori delle stime *shrinkage*, utilizzati per individuare le coppie farmaco-evento avverso significative. Di seguito si propone una descrizione dettagliata di questi tre step adattata al caso di studio in esame, in accordo con quanto riportato all'interno dell'articolo DuMouchel & Harpaz (2012). I dati a cui si fa riferimento sono quelli descritti al Paragrafo 2.2 e come variabile di stratificazione si considera la sola variabile indicante la classe d'età composta da  $S = 7$  categorie.

### 3.4.1 Primo step: selezione dei farmaci e stima del modello logistico

Fissato un evento avverso  $k$ , in questo primo step viene selezionato un insieme di farmaci su cui adattare successivamente il modello logistico. Il criterio di inclusione di un farmaco è basato sul numero di eventi riportati per il  $j$ -esimo farmaco ( $N_j$ ) e sul numero atteso di eventi per il  $j$ -esimo farmaco (con  $j = 1, \dots, J$ ) aggiustato per la classe d'età ( $f_j$ ).

Il valore  $f_j$  è calcolato come  $f_j = \sum_i^n X_{ij} p_i$ , dove  $p_i$  rappresenta la probabilità aggiustata di appartenenza alla classe d'età  $s$ -esima per il soggetto nel report  $i$  ed è pari a  $p_i = (N_s + p_0) / (n_s + 1)$ , con  $N_s$  numero di eventi avversi riportati nello strato  $s$ -esimo e  $n_s$  numero di soggetti presenti nello strato  $s$ -esimo. Si noti come il valore  $p_i$  risulta essere uguale in tutti i report che presentano la stessa classe d'età.

Le coppie  $(N_j, f_j)$  sono utilizzate per la stima di massima verosimiglianza dell'iperparametro  $\delta_0$  del modello GPS con distribuzione a priori  $Gamma(\delta_0, \delta_0)$ . In questo caso la distribuzione a priori è composta da un'unica distribuzione Gamma con parametri uguali e non da una mistura di due distribuzioni Gamma. La funzione di log-verosimiglianza

risulta essere quindi

$$\log L(\gamma, \delta) = \sum_j^J \{ [\sum_{k=1}^{N_j} \log(\gamma + k - 1)] - N_j \log(1 + \delta/E_j) - \gamma \log(1 + E_j/\delta) \}, \quad (3.16)$$

con  $\gamma = \delta = \delta_0$  (DuMouchel et al., 1995). Si noti, in particolare, che i primi due termini della sommatoria tra parentesi graffe si annullano nel caso in cui  $N_j = 0$ .

Ottenuta la stima di massima verosimiglianza di  $\delta_0$ , la distribuzione a posteriori risulta essere  $Gamma(N_j + \delta_0, f_j + \delta_0)$ , da cui è possibile calcolare per ogni farmaco  $j$  il limite inferiore e superiore dell'intervallo di confidenza al 99% ( $\mu_{j,01}$  e  $\mu_{j,99}$ , rispettivamente) e la media a posteriori

$$\mu_j = (N_j + \delta_0) / (f_j + \delta_0). \quad (3.17)$$

Definita  $\mu_0$  la mediana dei valori di  $\mu_j$ , un farmaco è selezionato se soddisfa il seguente criterio  $|N_j - f_j| > 2.5$  e ( $(\mu_{j,01} > \mu_0)$  oppure  $(\mu_{j,99} < \mu_0)$ ). Tale criterio è definito nell'articolo DuMouchel & Harpaz (2012) e mira a individuare i farmaci che presentano un andamento che si discosta maggiormente dagli altri.

Dopo la selezione, si adatta un modello logistico del tipo  $\text{logit}(E(Y)) = \beta^T X$ , con variabile risposta  $Y$  che indica se il soggetto ha sviluppato ( $Y=1$ ) o meno ( $Y=0$ ) l'evento avverso di interesse e con covariate la variabile riferita alla classe d'età e le variabili indicanti la presenza o meno nei soggetti dei farmaci selezionati. La matrice del disegno risulta essere

$$X = \begin{bmatrix} 1 & x_{1,2} & \dots & x_{1,S} & x_{1,S+1} & \dots & x_{1,S+m} \\ 1 & x_{2,2} & \dots & x_{2,S} & x_{2,S+1} & \dots & x_{2,S+m} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ 1 & x_{N,2} & \dots & x_{N,S} & x_{N,S+1} & \dots & x_{N,S+m} \end{bmatrix} \quad (3.18)$$

dove  $N$  indica il numero di soggetti unici (in riferimento al database in analisi,  $N = 264\,444$ ),  $S$  indica il numero di categorie della variabile riferita alla classe d'età e  $m$  indica il numero di farmaci selezionati. Ogni elemento della matrice 3.18 può assumere valore 0 o 1. Si noti che a differenza del database KidSIDES in cui è specificata una riga per ogni segnalazione ed è dunque presente un farmaco per ogni riga, in questo caso una riga della matrice 3.18 può indicare la presenza di più farmaci quando il soggetto assume più farmaci contemporaneamente (politerapia).

Il modello logistico risultante fornisce una stima della probabilità che l'evento avverso di interesse sia stato sviluppato dal soggetto in base alla classe d'età di appartenenza e all'insieme di farmaci che ha assunto. Tuttavia, in questo caso la stima ottenuta dei coefficienti non ha uno scopo interpretativo, ma è utilizzata per aggiustare l'effetto dei farmaci concomitanti, come descritto nella seconda parte al paragrafo seguente.

### 3.4.2 Secondo step: calcolo delle frequenze attese $E$

La seconda fase consiste nel calcolo delle frequenze attese per ogni farmaco presente nel database ( $E_j$ ). In questo paragrafo il pedice  $i$  è utilizzato per indicizzare i soggetti e la matrice del disegno  $X$  è estesa a tutti i farmaci  $J$ , avendo di conseguenza  $s + J$  colonne con  $X_{ij} = 1$  se il farmaco  $j$  è assunto dal soggetto  $i$ -esimo,  $X_{ij} = 0$  altrimenti.

Le frequenze attese  $E_j$  sono stimate sulla base dei risultati ottenuti dal modello di regressione logistica adattato nella prima fase. La probabilità predetta dal modello logistico che il soggetto  $i$ -esimo presenti l'evento avverso di interesse è definita come

$$p_i = \frac{1}{1 + \exp(-\mu_i)}, \quad (3.19)$$

dove i coefficienti  $\beta_j$  per i farmaci non inclusi nel modello logistico vengono imposti pari a 0 e  $\mu = \sum_{k=1}^p \beta_k X_{ik}$ .

La frequenza attesa di osservare il farmaco  $j$ -esimo e l'evento avverso  $k$ -esimo sotto l'ipotesi nulla che il farmaco  $j$ -esimo sia associato all'evento avverso  $k$ -esimo ( $\beta_j=0$ ) è

$$E_j = \sum_i^N e_{ij} \quad \text{dove} \quad e_{ij} = \frac{X_{ij}}{1 + \exp(-\mu_i + \beta_j X_{ij})}. \quad (3.20)$$

Dall'equazione 3.20 si può notare che il fattore  $X_{ij}$  fa sì che  $e_{ij}$  sia pari a zero se il soggetto  $i$ -esimo non ha assunto il farmaco  $j$  ( $X_{ij}=0$ ), mentre  $e_{ij} = p_i$  se  $X_{ij}=1$ , ma il farmaco  $j$  non è incluso nella stima del modello logistico, dal momento che  $\beta_j = 0$ . Perciò includere anche i farmaci il cui conteggio osservato è nullo per l'evento avverso di interesse contribuisce alla stima della frequenza attesa  $E_j$ .

### 3.4.3 Terzo step: *Bayesian Shrinkage Estimates*

In quest'ultimo step, si stima un modello GPS con una sola distribuzione a priori Gamma a due parametri  $(\gamma, \delta)$  che produce uno *shrinkage* delle stime. I parametri sono stimati a partire dai valori delle coppie  $(N_j, E_j)$ , indicanti rispettivamente i conteggi osservati dell'evento avverso e i conteggi attesi aggiustati calcolati nel secondo step.

Dalla massimizzazione della 3.16 è possibile ottenere la stima di massima verosimiglianza dei parametri e calcolare la media posteriori, denominata *empirical Bayes relative report ratio* (EBRRR), del rapporto di segnalazione  $N_j/E_j$  riferito al farmaco  $j$

$$\text{EBRRR}_j = \frac{N_j + \gamma}{E_j + \delta}. \quad (3.21)$$

Il limite inferiore e superiore dell'intervallo di confidenza di livello  $\alpha$  sono ottenuti utilizzando la distribuzione a posteriori  $Gamma(N_j + \gamma, E_j + \delta)$ . In particolare, i dati supportano l'ipotesi di un'associazione tra il farmaco  $j$  e l'evento avverso di interesse se il limite inferiore dell'intervallo di confidenza è superiore al valore 1.

### 3.5 Dettagli computazionali

Il software utilizzato per le analisi riportate in questo elaborato è R (versione 4.2.2) (R Core Team, 2022). Per valutare la significatività dei test condotti si utilizza un livello di significatività  $\alpha$  del 10%. Le misure di disproporzionalità PRR, ROR e RORadj sono state ottenute applicando al database FAERS pediatrico le formule riportate al Paragrafo 3.2, mentre il modello GPS è stato stimato tramite la funzione `GPS` disponibile all'interno del pacchetto `R PhViD` (Ahmed & Poncet, 2016). L'algoritmo per la stima del modello RGPS, invece, non è disponibile in nessun pacchetto pubblico per il software R. Per questo motivo si è sviluppato il codice R per la stima di tale modello, basandosi sulla sua descrizione pubblicata nell'articolo di DuMouchel & Harpaz (2012) e riportata adattata al caso di studio in esame al Paragrafo 3.4.

Il codice R per l'implementazione del modello RGPS ai dati presenti nel database KidSIDES è riportato in Appendice C.



# Capitolo 4

## Risultati

Per ognuna delle coppie farmaco–evento avverso presenti sia nel database KidSIDES che nel GRiP *reference set* sono stati applicati i cinque metodi di disproporzionalità esposti nel Capitolo 3: ROR, PRR e GPS, che non considerano l’effetto dell’età, e RORadj e RGPS, che, invece, producono stime corrette per l’età. Per ognuno di questi metodi e per ogni coppia comune a entrambi i database è stata calcolata la stima puntuale degli indici di disproporzionalità e i rispettivi intervalli di confidenza al livello 90%. Una coppia è considerata un segnale quando il limite inferiore di tale intervallo è superiore al valore di soglia scelto pari a 1.

L’obiettivo principale è quello di confrontare i risultati ottenuti dal modello RGPS con gli altri modelli considerati, in modo tale da valutare se la combinazione prodotta dallo *shrinking* della stima e dalla correzione per l’età, possa portare a ottenere una migliore precisione della stima dell’associazione e a una maggiore accuratezza nell’individuazione dei segnali.

Delle 74 coppie comuni sia al database KidSIDES che al GRiP *reference set* (Appendice A), il modello RGPS identifica i 21 segnali presenti in Tabella 4.1. In questo capitolo si riportano solamente i risultati ottenuti dall’applicazione dei modelli alle coppie farmaco–ADR: *Ibuprofen–Anaphylactic reaction*, *Isoniazid–Hepatitis cholestatic*, *Ibuprofen–Erythema multiforme*, *Montelukast–Suicide attempt*, *Ibuprofen–Rash papular* e *Valproic acid–Paranoia*. Esse sono state scelte in modo tale da discutere i sei possibili esempi di situazioni riscontrate, riportando una descrizione dettagliata estendibile a tutte le coppie risultate essere dei segnali. I risultati ottenuti per le altre 16 coppie farmaco–ADR individuate essere dei segnali dal modello RGPS sono riportati in Appendice B.

La presentazione dei risultati si concentra sugli aspetti descrittivi e statistici ottenuti, piuttosto che sulle possibili implicazioni mediche o di salute pubblica.

TABELLA 4.1: Coppie farmaco–evento avverso identificate come segnali dal modello RGPS e presenti sia nel database KidSIDES che nel GRiP *reference set*. Per ogni coppia è riportato il nome comune del farmaco, il nome della reazione avversa proposta da MedDRA, il rispettivo codice identificativo, la frequenza assoluta ( $N_j$ ), la frequenza attesa ( $f_j$ ) e la frequenza attesa aggiustata calcolata con il modello RGPS ( $E_j$ ).

Farmaco	Reazione avversa	ID coppia farmaco–ADR	$N_j$	$f_j$	$E_j$
Ibuprofen	<i>Erythema multiforme</i>	21603967_36009707	35	10.80	10.20
	<i>Renal cortical necrosis</i>	21603967_37019353	8	0.61	0.81
	<i>Stevens-Johnson syndrome</i>	21603967_36009724	143	36.00	33.20
	<i>Toxic epidermal necrolysis</i>	21603967_36009754	162	25.10	27.10
	<i>Toxic skin eruption</i>	21603967_36009755	10	4.12	3.94
	<i>Anaphylactic reaction</i>	21603967_36009756	107	44.80	78.40
	<i>Rash papular</i>	21603967_37320187	24	24.10	15.90
Clarithromycin	<i>Stevens-Johnson syndrome</i>	21602977_36009724	20	4.40	9.46
	<i>Toxic epidermal necrolysis</i>	21602977_36009754	19	3.10	7.00
	<i>Toxic skin eruption</i>	21602977_36009755	3	0.49	0.48
	<i>Rash papular</i>	21602977_37320187	9	2.84	1.83
Isoniazid	<i>Drug induced liver injury</i>	21603103_42889495	31	1.21	2.08
	<i>Hepatitis cholestatic</i>	21603103_35909471	4	0.27	0.19
	<i>Liver injury</i>	21603103_35909503	13	0.84	1.53
Methylphenidate	<i>Delusion</i>	21604757_36918968	32	12.10	16.10
	<i>Acute psychosis</i>	21604757_36919145	8	3.55	3.09
	<i>Paranoia</i>	21604757_36919075	59	23.90	30.60
Montelukast	<i>Acute psychosis</i>	21603356_36919145	12	2.37	2.15
	<i>Affective disorder</i>	21603356_36919053	41	8.41	7.37
	<i>Paranoia</i>	21603356_36919075	44	14.50	14.40
	<i>Suicide attempt</i>	21603356_36919236	90	54.80	51.40

In Figura 4.1.A si può notare come per ognuno dei sei diversi eventi avversi considerati la percentuale di segnali individuati attraverso l'utilizzo dei metodi ROR, PRR e RORadj sia di molto superiore a quella riscontrata dal modello GPS e RGPS. Questi ultimi due modelli, in particolare, mostrano risultati simili, però si osserva che il modello RGPS nella maggior parte delle reazioni avverse esaminate seleziona un minor numero di coppie farmaco–ADR significative. Il modello RGPS risulta, perciò, essere il modello più conservativo, individuando un numero inferiore di falsi positivi. Una spiegazione di ciò potrebbe derivare dal metodo stesso di stima del modello RGPS: la combinazione del modello GPS, sensibile alla dimensione del campione, e del modello logistico, per il calcolo corretto delle frequenze attese, permette di avere stime più precise.

Inoltre, è possibile osservare che il modello RGPS ha anche valori di accuratezza migliori (più elevati) rispetto agli altri modelli (Figura 4.1.B). L'accuratezza è misurata per ogni reazione avversa considerata utilizzando come *gold standard* (veri positivi) l'associazione osservata nel database GRiP, mentre come controlli negativi (veri negativi) sono stati utilizzati tutti i farmaci riportati in KidSIDES insieme all'evento avverso considerato, ma che non presentano associazione significativa con tale evento avverso

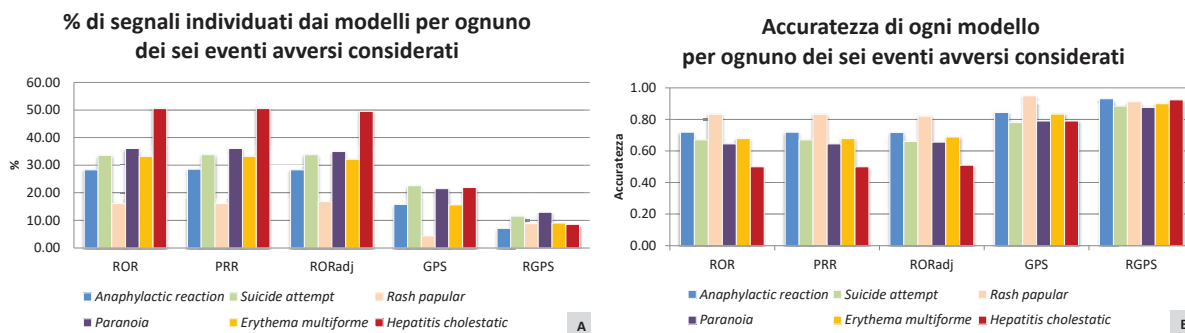


FIGURA 4.1: Percentuale di segnali individuati (A) e valori dell'accuratezza (B) ottenuti dai modelli di disproporzionalità: ROR, PRR, ROR aggiustato, GPS e RGPS per le ADR: *Anaphylactic reaction*, *Suicide attempt*, *Rash papular*, *Paranoia*, *Erythema multiforme* e *Hepatitis cholestatic*.

in GRiP. A differenza degli altri modelli, il modello RGPS permette di correggere per l'effetto dovuto all'età e per l'effetto dovuto alla politerapia grazie all'utilizzo del modello logistico nella procedura di stima. Nel caso in cui un farmaco non associato all'evento avverso è preso in concomitanza con un altro farmaco associato all'evento avverso, il modello RGPS mira ad identificare il solo farmaco associato e non entrambi, come potrebbe accadere per i metodi frequentisti. Considerare, perciò, questi effetti fa sì che il modello RGPS presenti una migliore accuratezza e precisione.

In Figura 4.2 sono riportate le stime puntuali e i relativi intervalli di confidenza al livello di significatività 90% per le coppie farmaco-ADR descritte in questo paragrafo. Il modello RGPS nella maggior parte delle 21 coppie farmaco-ADR significative produce misure di disproporzionalità più conservative (più piccole) e intervalli di confidenza meno ampi rispetto agli altri modelli. Ciò è possibile osservarlo, ad esempio, nel grafico in Figura 4.2.A in cui sono riportati i risultati ottenuti per la coppia *Ibuprofen-Anaphylactic reaction*. La stima puntuale ottenuta dai modelli ROR, PRR, RORadj e GPS risulta essere superiore al valore stimato dal modello RGPS. Questo è dovuto sia allo *shrinkage* della stima eseguito nel terzo step della procedura di stima del modello RGPS (Paragrafo 3.4.3), sia al fatto che si è inserita l'età come covariata nella stima del modello. Anche il modello GPS produce uno *shrinkage* verso il valore 1 della stima, tuttavia in questo caso essa non si discosta da quella dei metodi frequentisti. Un valore più piccolo di RGPS può suggerire un effetto indotto dall'età dei soggetti pediatrici non colto invece dagli altri modelli. Dalla Tabella 4.1 si osserva, in particolare, che la frequenza attesa calcolata tramite le stime derivanti dal modello logistico risulta essere maggiore della frequenza attesa calcolata con il modo usuale, portando di conseguenza a

uno *shrinkage* maggiore verso il valore 1. Dalla Figura 4.2.A è possibile osservare, inoltre, che l'ampiezza dell'intervallo di confidenza al 90% per la stima puntuale del modello RGPS è inferiore rispetto alle altre. Un'ampiezza minore dell'intervallo di confidenza porta ad avere stime più precise e analogamente a quanto sopradescritto, questo può essere un possibile indicatore del fatto che il modello RGPS tiene conto dei possibili bias di confondimento e mascheramento, non colti invece dagli altri modelli.

Una situazione invece in cui il modello RGPS ha valori della stima puntuale e dell'intervallo di confidenza molto simili agli altri modelli è riportata in Figura 4.2.B. Si noti che in questo caso anche il modello GPS ha risultati simili agli altri metodi, non producendo uno *shrinkage* della stima, e analogamente anche il modello RORadj ha risultati simili agli altri metodi, non producendo una correzione della stima per l'età. Questo può trovare una giustificazione nel fatto che la frequenza attesa calcolata con il modo usuale ha valore pari a quello della frequenza attesa calcolata con le stime del modello logistico e vi è un discreto numero di eventi avversi riportati per tale coppia, pari a 38 (Tabella 2.1).

La migliore precisione del modello RGPS è visibile in Figura 4.2.C, dove l'ampiezza dell'intervallo di confidenza è nettamente inferiore per il modello RGPS, rispetto agli altri modelli. In questo caso, per la coppia *Isoniazid–Hepatitis cholestatic* si registrano un numero di segnalazioni pari a 4, per cui il basso numero di segnalazioni fa sì che l'approssimazione normale per il calcolo dell'intervallo di confidenza nei modelli frequentisti venga meno e si è più soggetti a distorsione nelle stime.

L'effetto dell'età, invece, è evidente in Figura 4.2.D: per la coppia farmaco–ADR *Montelukast–Suicide attempt* i due indici corretti per la classe età (RORadj e RGPS) hanno valori superiori rispetto agli altri che non considerano l'età nel calcolo delle stime. Questo suggerisce che i pazienti che assumo il farmaco *Montelukast* hanno un rischio maggiore di sviluppare l'evento avverso *Suicide attempt* se si considera la classe d'età di appartenenza. A differenza del RORadj, si osserva che il modello RGPS ha il limite superiore dell'intervallo di confidenza più piccolo e, per quanto riguarda l'evento avverso del farmaco, RGPS seleziona un numero inferiore di coppie significative (Figura 4.1.A) e risulta essere, quindi, più accurato.

Negli ultimi due esempi riportati in Figura 4.2 (Figure 4.2.E e 4.2.F), è possibile notare come l'aggiustamento del modello RGPS per l'età e la politerapia può condurre a stime di associazione tra farmaco ed evento avverso diverse rispetto agli altri modelli. Nei quattro esempi precedenti il modello RGPS individua l'associazione al pari degli altri modelli, tuttavia in alcuni casi l'RGPS consente di individuare dei segnali non rilevati dagli altri modelli, come ad esempio l'associazione tra il farmaco *Ibuprofen* e

l'evento avverso *Rash papular*. In Figura 4.2.E è possibile notare come i valori degli indici di disproporzionalità per i modelli ROR, PRR, RORadj e GPS in riferimento a questa coppia abbiano il limite inferiore dell'intervallo di confidenza al di sotto del valore di soglia scelto pari a 1, mentre per il modello RGPS tale limite è superiore a 1. In questo caso, la coppia *Ibuprofen-Rash papular* è classificata nel database di riferimento GRiP come associazione positiva verificata, per cui il modello RGPS identifica una vera associazione, presentando una sensibilità e accuratezza maggiori associate all'evento avverso *Rash papular* (Figura 4.1).

Infine, in altri casi, come quello riportato in Figura 4.2.F, si è rilevato un segnale con i modelli tradizionali (ROR, PRR, RORadj e GPS), ma non con il modello RGPS. In questo caso, l'associazione tra il farmaco *Valproic acid* e l'evento avverso *paranoia* non è identificata dal modello RGPS, in quanto il limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 90% è minore a 1, ma è identificata dagli altri modelli stimati. Questa coppia, tuttavia, non è classificata come associazione positiva verificata nel GRiP *reference set* e in letteratura non vi sono indicazioni su tale associazione. Questo può suggerire, perciò, che l'associazione individuata dai modelli ROR, PRR, RORadj e GPS risulta essere un segnale falso positivo, che porta a una diminuzione dell'accuratezza in tali modelli per quanto riguarda l'evento avverso *paranoia* (Figura 4.1).

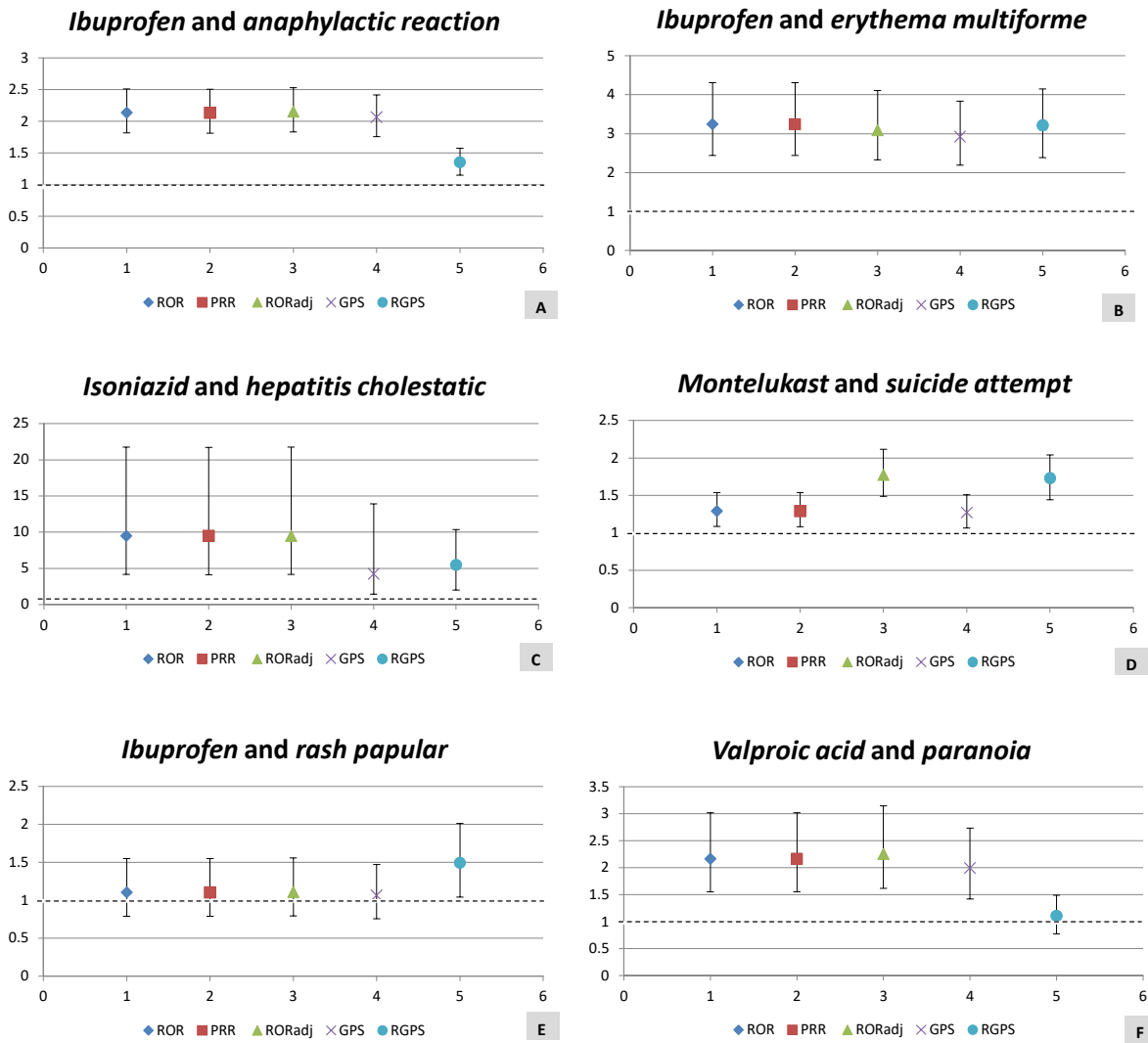


FIGURA 4.2: Stima puntuale e intervallo di confidenza al livello 90% per le coppie farmaco-ADR: *Ibuprofen-Anaphylactic reaction* (A), *Ibuprofen-Erythema multiforme* (B), *Isoniazid-Hepatitis cholestatic* (C), *Montelukast-Suicide attempt* (D), *Ibuprofen-Rash papular* (E) e *Valproic acid-Paranoia* (F). La linea tratteggiata indica il valore di soglia pari a 1.

# Conclusioni

Il processo di sviluppo e approvazione di un farmaco è un percorso complesso condotto su centinaia di pazienti e che dura diversi anni. Tuttavia le informazioni derivanti dagli studi effettuati prima dell'approvazione non sono sufficienti a delineare completamente il profilo di rischio di un farmaco nel causare eventi avversi. Nessun farmaco è infatti esente da rischi ed è necessario sorvegliare costantemente tramite la farmacovigilanza il profilo di tollerabilità dei prodotti presenti sul mercato e disponibili alla popolazione.

Nel Capitolo 1 si sono illustrate le fasi che compongono questo processo di sviluppo, con particolare attenzione alla fase IV di farmacovigilanza pediatrica. La popolazione pediatrica, infatti, spesso non rientra negli studi precedenti alla commercializzazione e ciò che ne consegue è una limitata disponibilità di farmaci adatti ai pazienti pediatrici, a cui vengono spesso somministrati medicinali sviluppati originariamente per pazienti adulti. Dal momento che, rispetto agli adulti, la popolazione in età pediatrica presenta differenti parametri farmacodinamici e farmacocinetici, ciò può comportare delle reazioni avverse ai farmaci più gravi e più durature rispetto a quelle riscontrate nella popolazione adulta.

Nel Capitolo 2 si è fornita una breve descrizione dei database spontanei, con un focus particolare sulla struttura del database pubblico *FDA Adverse Event Reporting System* (FAERS), il principale strumento attualmente utilizzato dalla FDA per raccogliere informazioni sui farmaci e sugli eventi avversi durante la fase IV. Successivamente, ci si è concentrati sul database KidSIDES che contiene i dati del FAERS fino al terzo trimestre del 2019 relativi a pazienti pediatrici (da 0 a 21 anni compresi), creato da Giangreco & Tatonetti (2022) e utilizzato per le analisi presentate in questo elaborato. La farmacovigilanza pediatrica è un ramo della farmacovigilanza ancora poco conosciuto e indagato e i dati che si hanno a disposizione sono in numero inferiore dal momento che si considerano solo i soggetti fino ai 21 anni. Considerare l'età dei pazienti pediatrici è di fondamentale importanza in quanto i differenti processi dinamici nella fase di crescita e sviluppo dei bambini possono modificare significativamente come essi rispondono a un trattamento.

Nel Capitolo 3 sono stati elencati i principali modelli statistici attualmente utilizzati dalle agenzie di farmacovigilanza per l'analisi della disproporzionalità e l'algoritmo *Regression-adjusted gamma-Poisson shrinkage* (RGPS) recentemente sviluppato da DuMouchel & Harpaz (2012), di particolare interesse in questo elaborato. Molti metodi di disproporzionalità, come il *Proportional Reporting Ratio* (PRR), il *Reporting Odds Ratio* (ROR), il *Reporting Odds Ratio* aggiustato (RORadj) e il *Gamma-Poisson Shrinkage model* (GPS), proposti dalla letteratura e attualmente utilizzati dai centri di farmacovigilanza, non permettono di considerare la politerapia e l'inclusione di confondenti quali l'età risulta complicata. Per questo motivo, questo elaborato si è concentrato sullo sviluppo e sull'applicazione del modello RGPS, che permette di considerare sia la possibile assunzione di più farmaci in concomitanza che correggere le stime per l'età. In particolare, si è provveduto a sviluppare il codice per la stima del modello RGPS, non disponibile in nessun pacchetto pubblico per il software R. L'obiettivo principale era confrontare la misura di disproporzionalità aggiustata per età prodotta dall'applicazione del modello RGPS, con quella risultante dall'applicazione degli altri metodi considerati, al fine di identificare meglio le associazioni tra farmaci ed eventi avversi nei bambini.

I risultati ottenuti sono stati descritti al Capitolo 4 e sono coerenti con quanto riportato negli articoli DuMouchel & Harpaz (2012) e Giangreco & Tatonetti (2022). Per ognuna delle coppie farmaco-ADR comuni al database KidSIDES e al GRiP *reference set* sono stati applicati i cinque metodi di disproporzionalità esposti nel Capitolo 3: ROR, PRR e GPS, che non considerano l'effetto dell'età, e RORadj e RGPS, che producono stime corrette per l'età. Il modello RGPS è risultato essere il modello più conservativo, individuando nella maggior parte delle reazioni avverse analizzate un numero inferiore di farmaci associati. Allo stesso tempo è risultato essere il modello con una maggiore accuratezza: se si confrontano le prestazioni dell'RGPS con quelle degli altri metodi utilizzando il database di riferimento GRiP, l'RGPS individua un numero maggiore di segnali "veri" e un minor numero di segnali falsi positivi. Si è osservato, inoltre, che nel complesso il modello RGPS consente di ottenere stime sia caratterizzate da *shrinkage* che corrette per l'età. I risultati ottenuti evidenziano, in particolare quando il numero di eventi avversi riportati per un determinato farmaco è basso, che il modello RGPS produce stime puntuali di disproporzionalità più conservative (più piccole) rispetto al modello GPS, intervalli di confidenza meno ampi rispetto agli altri modelli e permette di correggere per l'età in modo migliore rispetto all'indice RORadj.

Una possibile spiegazione di questa migliore prestazione del modello RGPS può derivare dal fatto che tale modello combina nella procedura di stima sia la regressione



logistica che il modello GPS. Infatti, grazie all'utilizzo del modello logistico nella procedura di stima, il modello RGPS, a differenza degli altri modelli considerati, permette di correggere per l'effetto dovuto sia all'età che alla politerapia, inoltre grazie alla combinazione del metodo bayesiano, sensibile alla dimensione del campione, permette di ottenere uno *shrinkage* delle stime. Questo *shrinkage*, inoltre, a differenza del modello GPS non è comune a tutti gli eventi avversi, ma risulta diverso per ogni singolo evento avverso. Un'ulteriore particolarità dell'RGPS è che permette di considerare anche conteggi nulli di segnalazioni di un evento avverso per un determinato farmaco, ma che possono altrettanto incidere sulla stima corretta delle frequenze attese.

Le stime di RGPS per cui risultano sia corrette per l'età, sia considerano il fatto che un soggetto può assumere simultaneamente più farmaci per la stessa patologia, sia sono caratterizzate da *shrinkage*. Questo fa sì che per alcune coppie farmaco-ADR il modello RGPS consenta di individuare dei segnali non rilevati invece dagli altri modelli, ossia l'associazione risulta significativa dal momento che le stime tengono conto sia dell'età che della politerapia. In altri casi è possibile identificare con il modello RGPS alcune coppie farmaco-ADR la cui associazione è mascherata dall'effetto dell'età negli altri modelli, ossia un segnale non è identificato dal modello RGPS ma è individuato dagli altri modelli. In questo caso l'associazione fra un determinato farmaco e un evento avverso individuata con i modelli usuali è rilevata perché è presente un'associazione fra il farmaco e l'età e l'evento avverso e l'età, ma è solo apparente.

Infine, per quanto riguarda gli aspetti computazionali, il modello RGPS presenta una procedura di stima più complessa rispetto agli altri metodi e un onere computazionale maggiore. Inoltre è possibile stimarlo per un evento avverso alla volta, anche se questa sua particolarità fa sì che si possa usare il calcolo parallelo per aumentarne l'efficienza computazionale.

In conclusione, sebbene il modello RGPS presenti una maggiore difficoltà dal punto di vista computazionale rispetto agli altri metodi di disproporzionalità considerati, questo modello si rivela di fondamentale importanza per le procedure di individuazione dei segnali nei database spontanei di farmacovigilanza. In particolare, i risultati ottenuti in questo elaborato nell'ambito della farmacovigilanza pediatrica evidenziano la sua migliore performance nell'individuazione dei segnali. Inoltre il modello RGPS permette di considerare e correggere le stime per età dei soggetti, di fondamentale importanza nel caso di pazienti pediatriche, che si presentano essere un gruppo eterogeneo di soggetti in vari stadi di sviluppo. Questa procedura per cui potrebbe essere di grande aiuto per le autorità di farmacovigilanza durante la fase VI di sorveglianza *post-marketing* dei farmaci e in particolare nella farmacovigilanza pediatrica.

## Limiti e sviluppi futuri

I database di farmacovigilanza si sono dimostrati essere gli strumenti più efficaci per l'identificazione delle reazioni avverse ai farmaci sconosciute e clinicamente rilevanti. Essi sono costituiti dai dati derivanti dalle segnalazioni spontanee di reazioni avverse ai farmaci, tuttavia proprio questa loro configurazione causa delle problematiche nelle analisi su questo tipo di dati. La prima limitazione riguarda il fatto che non è presente un campione probabilistico sul quale effettuare le analisi, ma solo raccolte di segnalazioni di ADR senza un gruppo di controlli. La seconda limitazione riguarda il problema della sottosegnalazione: la maggior parte delle registrazioni sono inviate da medici o pazienti, tuttavia nessuno è obbligato a segnalare una reazione avversa a un farmaco. Perciò, risulta impossibile stimare un valore della sottosegnalazione ed essa è molto suscettibile a fattori esogeni, quali il periodo temporale (*Weber effect*) e gli stimoli esterni, come l'opinione pubblica (*Publicity Bias*) che ne rendono ancora più difficoltosa la comprensione. Sebbene l'entità della sottosegnalazione sia ampiamente variabile, è certo che il numero di segnalazioni di eventi avversi costituisce solo una minima percentuale del totale delle ADR verificatesi.

Un'ulteriore limitazione riscontrata in questo studio è la difficoltà nel reperire un *reference set* da utilizzare come *gold standard* per confrontare la performance dei modelli considerati. I *reference set* infatti sono piuttosto limitati, specialmente per quanto riguarda le informazioni sulle associazioni di farmaci ed eventi avversi per i pazienti pediatrici. Ciò non consente di avere una valida misura di confronto, dal momento che non si riescono a distinguere tutte le coppie farmaco-ADR veramente significative, da quelle veramente non significative. In questo elaborato è stato scelto come *reference set* il database GRiP, tuttavia bisogna tener conto che questo database considera come pediatrici i soggetti di età pari o inferiore ai 18 anni, mentre nel database KidSIDES i soggetti pediatrici hanno età inferiore o pari ai 21 anni. Questo comporta che per l'ultima classe d'età, denominata "*late adolescence*" (18-21 anni), non è possibile confrontare i segnali rilevati con un *gold standard*, con la conseguenza di non sapere quanto si sta sbagliando in questa classe d'età nell'individuazione degli eventi avversi associati a un determinato farmaco.

Infine, l'approccio utilizzato in questo elaborato permette di ottenere stime corrette per l'età, tuttavia non consente di ipotizzare per quali classi d'età risulta presente l'associazione farmaco-ADR. Questo potrebbe essere uno degli aspetti da approfondire in studi futuri, come anche l'inclusione di altri confondenti nella stima del modello oltre alla classe d'età che possono migliorare ulteriormente l'identificazione dei segnali.

# Appendice A

TABELLA A.1: Coppie farmaco-ADR presenti sia nel database KidSIDES che nel GRiP *reference set*. Per ogni coppia è riportato il nome comune del farmaco, il nome della reazione avversa proposta da MedDRA e il rispettivo codice identificativo.

Farmaco	Reazione avversa	ID coppia farmaco-ADR
<i>Ibuprofen</i>	<i>Erythema multiforme</i>	21603967_36009707
	<i>Renal cortical necrosis</i>	21603967_37019353
	<i>Stevens-Johnson syndrome</i>	21603967_36009724
	<i>Toxic epidermal necrolysis</i>	21603967_36009754
	<i>Toxic skin eruption</i>	21603967_36009755
	<i>Anaphylactic reaction</i>	21603967_36009756
	<i>Rash papular</i>	21603967_37320187
	<i>Blood creatinine increased</i>	21603967_36315575
	<i>Creatinine renal clearance decreased</i>	21603967_36315595
<i>Clarithromycin</i>	<i>Renal papillary necrosis</i>	21603967_35506541
	<i>Stevens-Johnson syndrome</i>	21602977_36009724
	<i>Toxic skin eruption</i>	21602977_36009755
	<i>Toxic epidermal necrolysis</i>	21602977_36009754
	<i>Rash papular</i>	21602977_37320187
	<i>Alanine aminotransferase increased</i>	21602977_36313524
	<i>Hepatic necrosis</i>	21602977_35909611
	<i>Hepatocellular injury</i>	21602977_35909624
	<i>Blood alkaline phosphatase increased</i>	21602977_36312568
	<i>Liver injury</i>	21602977_35909503
	<i>Drug-induced liver injury</i>	21602977_42889495
	<i>Oculomucocutaneous syndrome</i>	21602977_35607134
	<i>Erythema multiforme</i>	21602977_36009707
<i>Platelet count decreased</i>	21602977_36313176	
<i>Platelet disorder</i>	21602977_35104679	
<i>Thrombocytopenia</i>	21602977_35104691	
<i>Heparin-induced thrombocytopenia</i>	21602977_35104688	

<b>Farmaco</b>	<b>Reazione avversa</b>	<b>ID coppia farmaco-ADR</b>	
<i>Isoniazid</i>	<i>Drug induced liver injury</i>	21603103_42889495	
	<i>Hepatitis cholestatic</i>	21603103_35909471	
	<i>Liver injury</i>	21603103_35909503	
	<i>Alanine aminotransferase abnormal</i>	21603103_36313522	
	<i>Rash papular</i>	21603103_37320187	
	<i>Hepatocellular injury</i>	21603103_35909624	
	<i>Stevens-Johnson syndrome</i>	21603103_36009724	
	<i>Toxic skin eruption</i>	21603103_36009755	
	<i>Toxic epidermal necrolysis</i>	21603103_36009754	
	<i>Hepatic necrosis</i>	21603103_35909611	
	<i>Blood alkaline phosphatase increased</i>	21603103_36312568	
	<i>Erythema multiforme</i>	21603103_36009707	
	<i>Hepatic cirrhosis</i>	21603103_35909527	
	<i>Bilirubin conjugated increased</i>	21603103_36313544	
<i>Methylphenidate</i>	<i>Delusion</i>	21604757_36918968	
	<i>Affective disorder</i>	21604757_36919053	
	<i>Acute psychosis</i>	21604757_36919145	
	<i>Grandiosity</i>	21604757_36919067	
	<i>Persecutory delusion</i>	21604757_36918976	
	<i>Transient psychosis</i>	21604757_36919136	
	<i>Bipolar disorder</i>	21604757_36919033	
	<i>Psychotic disorder</i>	21604757_36919149	
<i>Montelukast</i>	<i>Paranoia</i>	21604757_36919075	
	<i>Suicide attempt</i>	21603356_36919236	
	<i>Acute psychosis</i>	21603356_36919145	
	<i>Affective disorder</i>	21603356_36919053	
	<i>Paranoia</i>	21603356_36919075	
	<i>Delusion</i>	21603356_36918968	
	<i>Transient psychosis</i>	21603356_36919136	
	<i>Bipolar disorder</i>	21603356_36919033	
	<i>Childhood psychosis</i>	21603356_36919146	
	<i>Psychotic disorder</i>	21603356_36919149	
<i>Mebendazole</i>	<i>Hysterical psychosis</i>	21603356_36919147	
	<i>Completed suicide</i>	21603356_36919230	
	<i>Alanine aminotransferase increased</i>	21604941_36313524	
	<i>Liver injury</i>	21604941_35909503	
	<i>Doxycycline</i>	<i>Stevens-Johnson syndrome</i>	21602800_36009724
		<i>Erythema multiforme</i>	21602800_36009707
		<i>Toxic epidermal necrolysis</i>	21602800_36009754
	<i>Isotretinoin</i>	<i>Rash papular</i>	21602800_37320187
<i>Suicide attempt</i>		21602320_36919236	
<i>Acute psychosis</i>		21602320_36919145	
<i>Affective disorder</i>		21602320_36919053	
<i>Paranoia</i>		21602320_36919075	
<i>Delusion</i>		21602320_36918968	
<i>Bipolar disorder</i>		21602320_36919033	
<i>Psychotic disorder</i>	21602320_36919149		
	<i>Completed suicide</i>	21602320_36919230	

# Appendice B

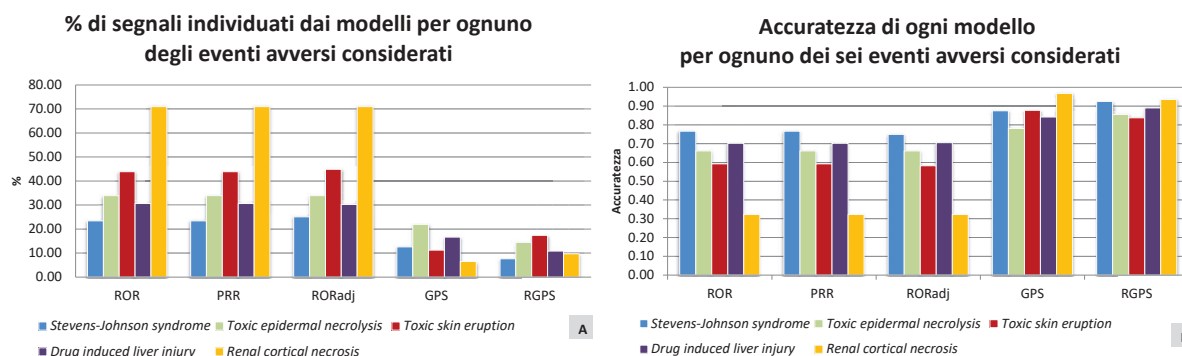


FIGURA B.1: Percentuale di segnali individuati (A) e valori dell'accuratezza (B) ottenuti dai modelli di disproporzionalità: ROR, PRR, ROR aggiustato, GPS e RGPS per le ADR: *Stevens-Johnson syndrome*, *Toxic epidermal necrolysis*, *Toxic skin eruption*, *Drug induced liver injury* e *Renal cortical necrosis*.

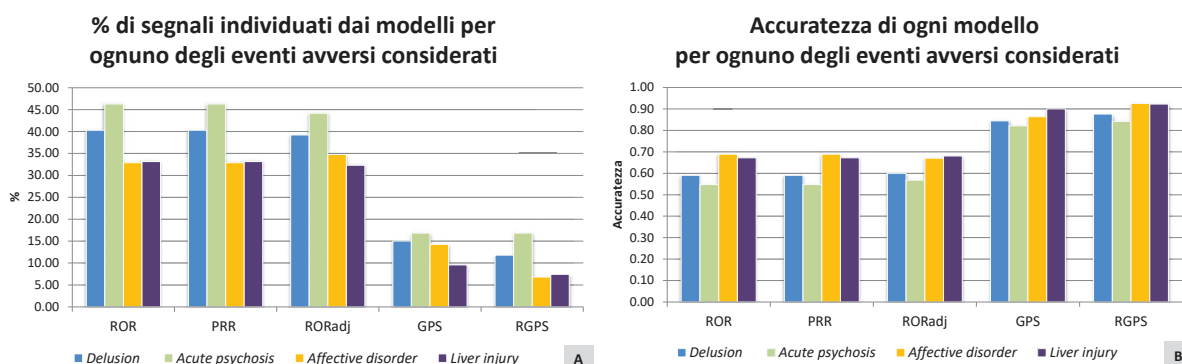


FIGURA B.2: Percentuale di segnali individuati (A) e valori dell'accuratezza (B) ottenuti dai modelli di disproporzionalità: ROR, PRR, ROR aggiustato, GPS e RGPS per le ADR: *Delusion*, *Acute psychosis*, *Affective disorder* e *Liver injury*.

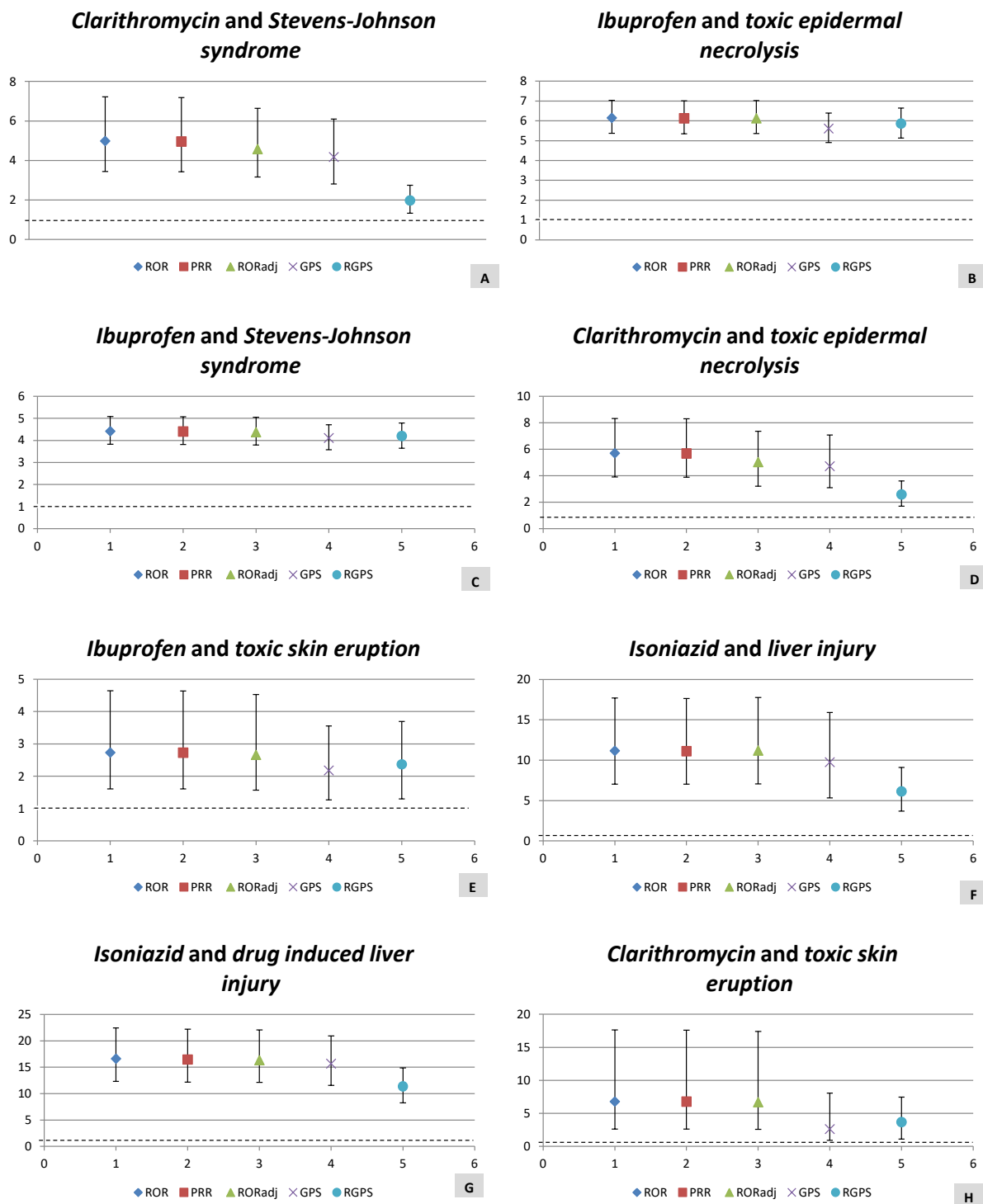


FIGURA B.3: Stima puntuale e intervallo di confidenza al livello 90% per le coppie farmaco-ADR: *Clarithromycin-Stevens-Johnson syndrome* (A), *Ibuprofen-Toxic epidermal necrolysis* (B), *Ibuprofen-Stevens-Johnson syndrome* (C), *Clarithromycin-Toxic epidermal necrolysis* (D), *Ibuprofen-Toxic skin eruption* (E), *Isoniazid-Liver injury* (F), *Isoniazid-Drug induced liver injury* (G) e *Clarithromycin-Toxic skin eruption* (H). La linea tratteggiata indica il valore di soglia pari a 1.

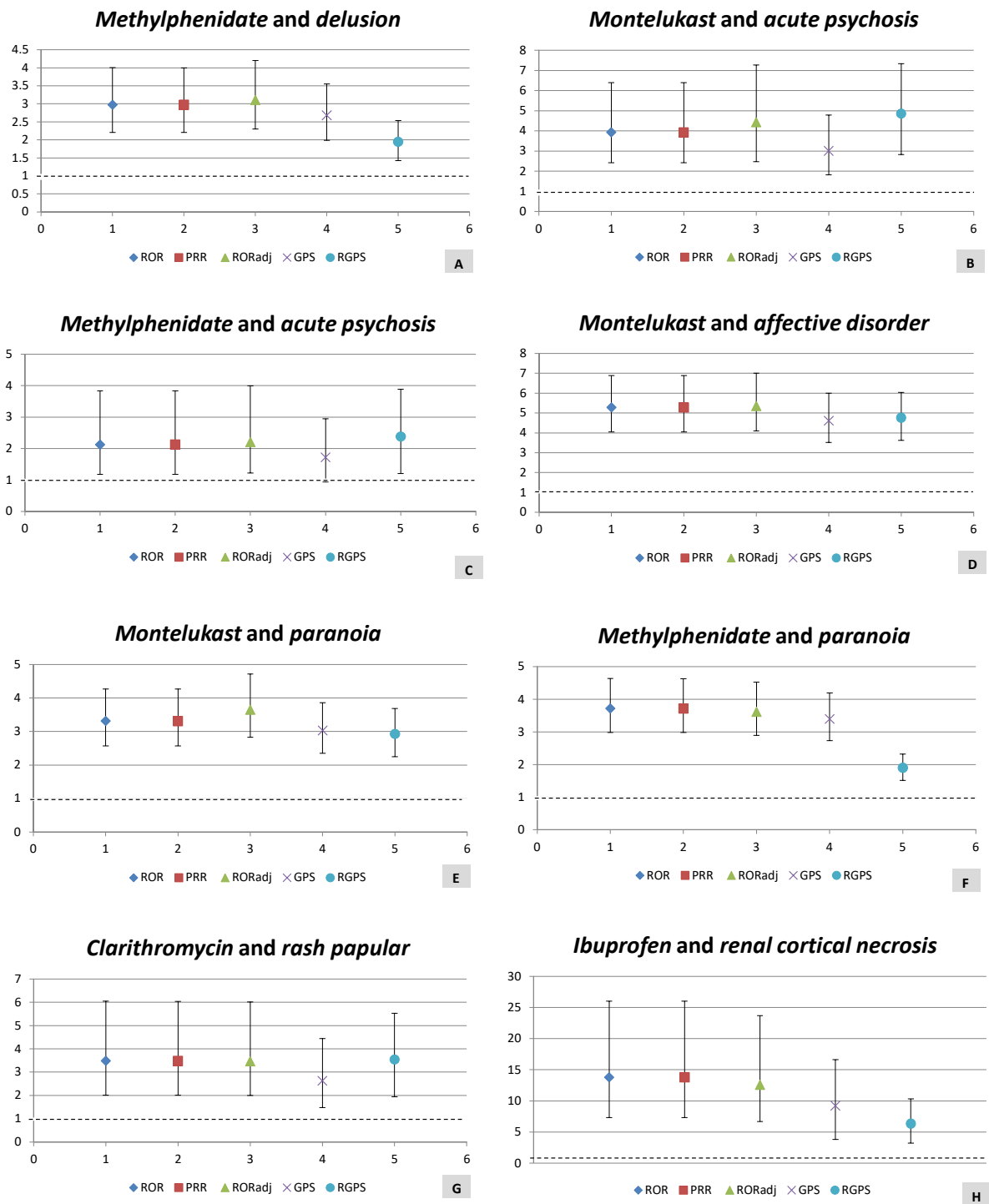


FIGURA B.4: Stima puntuale e intervallo di confidenza al livello 90% per le coppie farmaco-ADR: *Methylphenidate-Delusion* (A), *Montelukast-Acute psychosis* (B), *Methylphenidate-Acute psychosis* (C), *Montelukast-Affective disorder* (D), *Montelukast-Paranoia* (E), *Methylphenidate-Paranoia* (F), *Clarithromycin-Rash papular* (G) e *Ibuprofen-Renal cortical necrosis* (H). La linea tratteggiata indica il valore di soglia pari a 1.





# Appendice C

## Implementazione del modello RGPS: Codice R

---

```
#CARICAMENTO DEL DATABASE KidsSIDES
source("functions.R") #il file "functions.R" e' reperibile nella direttory
#github https://github.com/ngiangre/kidsides.
sqlfile <- download_sqlite_db("Kidsides.gz")
con <- connect_sqlite_db()

#Estrazione della tabella "ade_raw"
raw_data <- (dplyr::tbl(con,"ade_raw") %>%
             dplyr::collect())

#Selezione delle sole colonne id, drugs, adverse_event e nichd
dati <- raw_data[,c(1, 3,4,5)]
colnames(dati) <- c("id", "drug", "adverse_event", "nichd")

#unione dell'ID del farmaco con l'ID dell'evento avverso
#ade=coppie farmaco-evento avverso
dati$ade <- paste0(dati$drug, "_",dati$adverse_event)
ade <- unique(dati$ade)

dati$nichd <- factor(dati$nichd, levels = c("term_neonatal", "infancy", "toddler",
      "early_childhood", "middle_childhood","early_adolescence",
      "late_adolescence"))

dati <-arrange(dati, drug)

#-----

#CREAZIONE DELLA MATRICE 0,1 CON TUTTI I FARMACI
#una riga per ogni soggetto unico, le colonne si riferiscono ai farmaci
X_tutta <- dati[,c(1,4)]
X_tutta <- unique(X_tutta)
X_tutta <-arrange(X_tutta, id)

farmaco <- unique(dati$drug)

for (j in 1:length(farmaco)){
  Xj <- as.data.frame(iffelse(dati$drug==farmaco[j], 1, 0), ncol=1)
  Xj$id <- dati$id
  Xj <-arrange(Xj, id)
  Xj <- as.data.frame(tapply(Xj[,1], Xj$id, FUN= sum))
  Xj[Xj > 1] <- 1
  X_tutta[,j+2] <- Xj[,1]
```

```

  colnames(X_tutta)[j+2] <- farmaco[j]
}

X_tutta$nichd <- factor(X_tutta$nichd, levels = c("term_neonatal", "infancy", "toddler",
  "early_childhood", "middle_childhood", "early_adolescence",
  "late_adolescence"))

#-----

#MODELLO RGPS STIMATO PER UN SINGOLO EVENTO AVVERSO ALLA VOLTA

#Selezione dell'evento avverso (ADR)
ADR <- "36313544" #evento avverso: Bilirubin conjugated increased

#####
#STEP 1 - selezione dei farmaci e stima modello logistico
#####

#PASSO 1: Selezione dei farmaci
#calcolo degli indici necessari per la selezione delle variabili
#Ns, ns, p0, pi, Nj, fi

#Ns: numero di eventi (ade=coppie farmaco-evento avverso) unici per strato
strata <- levels(dati$nichd) #categorie della variabile di stratificazione
Ns <- data.frame()
for (i in 1:length(strata)){
  sel <- dati %>% filter(nichd==strata[i]) %>% filter(adverse_event==ADR)
  Ns[i,1] <- strata[i]
  Ns[i,2] <- length(unique(sel$id))
}

#ns: numero di report (righe del dataset iniziale) in un determinato strato
ns <- data.frame()
for (i in 1:length(strata)){
  sel <- dati %>% filter(nichd==strata[i])
  ns[i,1] <- strata[i]
  ns[i,2] <- length(unique(sel$id))
}

#p0: probabilita' a priori di sviluppare l'evento
p0 <- sum(Ns[,2])/sum(ns[,2])

#pi: probabilita' a priori di sviluppare l'evento per ogni strato
pi <- cbind(strata, (Ns[,2]+p0)/(ns[,2]+1) )
colnames(pi) <- c("nichd", "pi")

#Nj: numero di eventi (ade=coppie farmaco-evento avverso) unici per drugs
farmaco <- levels(as.factor(dati$drug))
Nj_fj <- data.frame()
for (i in 1:length(farmaco)){
  sel <- dati %>% filter(drug==farmaco[i]) %>% filter(adverse_event==ADR)
  Nj_fj[i,1] <- farmaco[i]
  Nj_fj[i,2] <- length(unique(sel$id))
}

```

```

#soggetti che appartengono alla stessa classe d'eta' hanno lo stesso valore di pi
#Quindi assegno ad ogni soggetto presente nella matrice X_tutta il valore di pi
#corrispondente alla classe d'eta' del soggetto
a <-merge(X_tutta, pi, by="nichd")
a$pi <- as.numeric(a$pi)
a <- as.matrix(a[,3:dim(a)[2]])

#fj: frequenze attese corrette per la classe d'eta'
for (i in 1:length(farmaco)){
  somma <- t(a[,i]) %*% a[,dim(a)[2]]
  Nj_fj[i,3] <- somma
}

colnames(Nj_fj) <- c("drug", "Nj", "fj")

data_selezione <-arrange(Nj_fj, drug)
#Il calcolo delle quantita' Nj e fj e' oneroso, per cui
#si consiglia di salvare il dataset "data_selezione" ottenuto

#####

#PASSO 2:
#stima di delta0 usando la distribuzione a priori Gamma e selezione dei farmaci

#funzione di massima verosimiglianza
stima <-function (theta, N, E, k) {
  alpha <- theta
  logL <- -sum(rowSums(ifelse(is.na(k), 0, log(alpha+k-1)))
    -ifelse(N=0, 0, N*log(1+alpha/E))-alpha*log(1+E/alpha))
}

#calcolo di k come una matrice di valori 1,2,3,..., Nj per ogni farmaco j
k <- matrix(ncol = max(data_selezione$Nj), nrow = length(data_selezione$Nj))
for (i in 1:length(data_selezione$Nj)){
  if(data_selezione$Nj[i]!=0) k[i,1:data_selezione$Nj[i]] <- 1:data_selezione$Nj[i]
}

#stima di massima verosimiglianza per il parametro delta0
set.seed(1234)
massimo <- nlm(stima, p =c(0.1), N=data_selezione$Nj, E=data_selezione$fj, k=k)

delta0 <- massimo$estimate #valore di delta0 per il calcolo della stima a posteriori

#mu_j: media a posteriori
mu_j <- (data_selezione$Nj+delta0) / (data_selezione$fj+delta0)

#mu0: mediana delle medie a posteriori
mu0 <- median(mu_j)

#quantili della distribuzione a posteriori a livello 99%
muj.01 <- qgamma(0.01, data_selezione$Nj+delta0, data_selezione$fj+delta0)
muj.99 <- qgamma(0.99, data_selezione$Nj+delta0, data_selezione$fj+delta0)

#selezione dei farmaci con i criteri proposti dall'articolo DuMouchel (2012)
chosen_drugs = abs(data_selezione$Nj-data_selezione$fj)>2.5 & (muj.01>mu0 | muj.99<mu0)

```

```

farmaci_selezionati <- data_selezione$drug[chosen_drugs]
pos_farmaci_selezionati <- which(chosen_drugs==TRUE)

#####

#PASSO 3: Regressione logistica --> calcolo dei betaj solo per i farmaci selezionati
#logistic reg Y=evento avverso, X=farmaco
#1= presente, 0=assente

#selezione delle colonne che corrispondono ai farmaci selezionati nella matrice X_tutta
#e la colonna che si riferisce alla classe d'eta
matrice_finale <- X_tutta[,c(1,2,pos_farmaci_selezionati+2)]

matrice_finale_fattoriale <- as.data.frame(lapply(matrice_finale, as.factor))
matrice_finale_fattoriale <-arrange(matrice_finale_fattoriale, id)

matrice_finale_fattoriale$nichd <- factor(X_tutta$nichd, levels = c("term_neonatal",
      "infancy", "toddler", "early_childhood","middle_childhood",
      "early_adolescence","late_adolescence"))

#Creazione della variabile risposta in 0,1
ae1 <- as.data.frame(ifelse(dati$adverse_event==ADR, 1, 0), ncol=1)
ae1$id <- dati$id
ae1 <- as.data.frame(tapply(ae1[,1], ae1$id, FUN= sum))
ae1[ae1 > 1] <- 1
ae1 <-arrange(ae1, row.names(ae1))

#modello logistico
mod1 = glm(ae1[,1] ~ ., family = binomial, matrice_finale_fattoriale[,-1])

#####
#STEP 2
#Calcolo dei valori attesi
#####

#aggiunta delle colonne 0,1 riferite alla classe d'eta' alla matrice X_tutta
library(fastDummies)
prova_dummy2 <- dummy_cols(X_tutta[,1:2], select_columns = "nichd")
prova_dummy2$nichd_term_neonatal <- 1; names(prova_dummy2)[3] <- "intercetta"

matrice <- cbind(prova_dummy2, X_tutta[,3:dim(X_tutta)[2]])

farmaco <- unique(data_selezione$drug)

#Creazione del vettore beta che contiene i coefficienti del modello logistico stimato,
#per i farmaci inclusi nel modello, 0 altrimenti
beta_drug = rep(NA, length(farmaco))
names(beta_drug) = farmaco

beta_drug[chosen_drugs] = coef(mod1)[8:length(coef(mod1))]
beta_drug[is.na(beta_drug)] = 0
beta_inter <- coef(mod1)[1]
names(beta_inter) <- "Intercetta"
beta_nichd <- coef(mod1)[2:7]
names(beta_nichd) <- levels(matrice$nichd)[-1]

```

```

beta <- c(beta_inter, beta_nichd, beta_drug)

#Stima delle frequenze attese corrette
E = data.frame()
X = as.matrix(matrice[, -c(1:2)])
for (j in 1:length(farmaco)){
  Xj = X[, which(colnames(X)==farmaco[j])]
  betaj = as.matrix(beta, ncol = 1); betaj[which(names(beta)==farmaco[j])] = 0
  mu = X%*%betaj
  E[j,1] <- farmaco[j]
  E[j,2] = sum(Xj / (1 + exp(-mu)))
}

colnames(E) <- c("drug", "E")

#Affianco ia valori attesi corretti le frequenze attese calcolate nel modo usuale
#e il numero di eventi avversi segnalati per il farmaco j
data <- merge(data_selezione, E, by="drug")

data <-arrange(data, drug)

#####
#STEP 3
#GPS sulle coppie (Nj, Ej)
#####

#Funzione di massima verosimiglianza
stima2par <-function (theta, N, E, k) {
  alpha <- theta[1]
  beta <- theta[2]
  uno <- rowSums(ifelse(is.na(k), 0, log(alpha+k-1)))
  due <- ifelse(N==0, 0, N*log(1+beta/E))
  tre <- alpha*log(1+E/beta)
  return(-sum(uno-due-tre))
}

#calcolo k come una matrice di valori 1,2,3,..., Nj per ogni farmaco j
k <- matrix(ncol = max(data$Nj), nrow = length(data$Nj))
for (i in 1:length(data$Nj)){
  if(data$Nj[i]!=0) k[i,1:data$Nj[i]] <- 1:data$Nj[i]
}

#stima di massima verosimiglianza per il parametri gamma e delta
massimo <- nlm(stima2par, p =c(0.1,0.01), N=data$Nj, E=data$E, k=k)

gamma <- massimo$estimate[1]
delta <- massimo$estimate[2]

#EBRRRj: posterior mean of a drug relative reporting ratio
EBRRRj <- (data$Nj+gamma) / (data$E+delta)

#quantili della distribuzione a posteriori
RRR05j <- qgamma(0.05, data$Nj+gamma, data$E+delta)
RRR95j <- qgamma(0.95, data$Nj+gamma, data$E+delta)

```

```
#farmaci significativi, associati all'evento avverso considerato  
significativita = RRR05j>1
```

---







# Bibliografia

- AHMED, I. & PONCET, A. (2016). Package PhViD: Pharmacovigilance signal detection. R package version: 1.0.8.
- AIFA (2015). Pazienti con multimorbilità, la gestione della politerapia e i rischi delle interazioni farmacologiche. Visitato in data 24/02/2024, <https://www.aifa.gov.it/>.
- AIFA (2023a). La sperimentazione clinica dei farmaci. Visitato in data 16/10/2023, <https://aifa.gov.it/sperimentazione-clinica-dei-farmaci>.
- AIFA (2023b). Normativa - Farmacovigilanza. Visitato in data 24/10/2023, <https://aifa.gov.it/normativa-di-riferimento-farmacovigilanza>.
- BATE, A. & EVANS, S. J. W. (2009). Quantitative signal detection using spontaneous ADR reporting. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety* **18**, 427–436.
- BELTON, K. J., LEWIS, S. C., PAYNE, S., RAWLINS, M. D. & WOOD, S. M. (1995). Attitudinal survey of adverse drug reaction reporting by medical practitioners in the United Kingdom. *British Journal of Clinical Pharmacology* **39(3)**, 223–226.
- BROWN, D. G., WOBST, H. J., KAPOOR, A., KENNA, L. A. & SOUTHALL, N. (2021). Clinical development times for innovative drugs. *Nature Reviews Drug Discovery* **21(11)**, 793–794.
- BÉGAUD, B., CHASLERIE, A. & HARAMBURU, F. (1994). Organization and results of drug vigilance in France. *Revue D'épidemiologie Et De Sante Publique* **42(5)**, 416–423.
- CECI, A., GIANNUZZI, V., BONIFAZI, D., FELISI, M., BONIFAZI, F., RUGGIERI, L., CECI, A., GIANNUZZI, V., BONIFAZI, D., FELISI, M., BONIFAZI, F. & RUGGIERI, L. (2015). *Drug Discovery and Development - From Molecules to Medicine*. IntechOpen.

- CHAI, G., GOVERNALE, L., MCMAHON, A. W., TRINIDAD, J. P., STAFFA, J. & MURPHY, D. (2012). Trends of Outpatient Prescription Drug Utilization in US Children, 2002–2010. *Pediatrics* **130**, 23–31.
- DUMOUCHEL, W. (1999). Bayesian Data Mining in Large Frequency Tables, with an Application to the FDA Spontaneous Reporting System. *The American Statistician* **53**, 177–190. Publisher: [American Statistical Association, Taylor & Francis, Ltd.].
- DUMOUCHEL, W., FRAM, D., YANG, X., MAHMOUD, R., GROGG, A., ENGEHART, L. & RAMASWAMY, K. (2008). Antipsychotics, Glycemic Disorders, and Life-Threatening Diabetic Events: A Bayesian Data-Mining Analysis of the FDA Adverse Event Reporting System (1968-2004). *Annals of clinical psychiatry : official journal of the American Academy of Clinical Psychiatrists* **20**, 21–31.
- DUMOUCHEL, W., FRIEDMAN, C., HRIPCSAK, G., JOHNSON, S. B. & CLAYTON, P. D. (1995). *Two Applications of Statistical Modelling to Natural Language Processing*. Pre-proceedings of the Fifth International Workshop on Artificial Intelligence and Statistics. Pp. 192-198.
- DUMOUCHEL, W. & HARPAZ, R. (2012). Regression-Adjusted GPS Algorithm (RGPS). *Oracle* .
- EMA (2018). Paediatric Regulation. european medicines agency. Visitato in data 10/10/2023, <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/paediatric-medicines/paediatric-regulation>.
- EVANS, S. J., WALLER, P. C. & DAVIS, S. (2001). Use of proportional reporting ratios (PRRs) for signal generation from spontaneous adverse drug reaction reports. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety* **10**, 483–486.
- FDA (2019). The Drug Development Process. Visitato in data 19/10/2023, <https://www.fda.gov/patients/learn-about-drug-and-device-approvals/drug-development-process>.
- FDA (2023). FDA Adverse Event Reporting System (FAERS) Public Dashboard. Visitato in data 05/03/2024, <https://fis.fda.gov/sense/app/95239e26-e0be-42d9-a960-9a5f7f1c25ee/sheet/7a47a261-d58b-4203-a8aa-6d3021737452/state/analysis>.
- FDA (2024). Potential Signals of Serious Risks/New Safety Information Identified from the FDA Adverse Event Reporting System (FAERS). Visitato in data 26/02/2024,

- <https://www.fda.gov/drugs/guidance-compliance-regulatory-information/surveillance>.
- GATTA, R. & GARATTINI, S. (2022). Sviluppo di un farmaco: come avviene e chi lo fa. istituto di ricerche farmacologiche mario negri. Visitato in data 18/10/2023, <https://www.marionegri.it/magazine/sviluppo-farmaco>.
- GIANDOMENICO, R. Q. & BONATI, S. (2009). La farmacovigilanza in Italia. *30giorni - Il mensile del medico veterinario* **agosto**, 9–14.
- GIANGRECO, N. P., ELIAS, J. E. & TATONETTI, N. P. (2020). No population left behind: Improving paediatric drug safety using informatics and systems biology. *British Journal of Clinical Pharmacology* **88**, 1464–1470. eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/bcp.14705>.
- GIANGRECO, N. P., ELIAS, J. E. & TATONETTI, N. P. (2022). No population left behind: Improving paediatric drug safety using informatics and systems biology. *British Journal of Clinical Pharmacology* **88(4)**, 1464–1470.
- GIANGRECO, N. P. & TATONETTI, N. P. (2022). A database of pediatric drug effects to evaluate ontogenic mechanisms from child growth and development. *Med (New York, N.Y.)* **3**, 579–595.e7.
- HINES, R. N. (2007). Ontogeny of human hepatic cytochromes P450. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* **21(4)**, 169–175.
- ISMAIL, M. & AKRAM, M. U. (2022). FDA Adverse Event Reporting System (FAERS) Database: A Comprehensive Analysis of Its Structure, Functionality, and Limitations. *Sage Science Review of Applied Machine Learning* **5(2)**, 15–29.
- LAZAROU, J., POMERANZ, B. H. & COREY, P. N. (1998). Incidence of Adverse Drug Reactions in Hospitalized Patients A Meta-analysis of Prospective Studies. *JAMA* **279**, 1200–1205.
- LOMBARDI, N. (2016). *Uno Studio di Farmacovigilanza Attiva e Farmacoepidemiologia in Pronto Soccorso*. Ph.D. thesis, Firenze University Press. (Premio Tesi di Dottorato; 53).
- MEDDRA (2023a). Introductory Guide MedDRA Version 26.1. Visitato in data 06/11/2023, [https://admin.meddra.org/sites/default/files/guidance/file/intguide\\_26\\_1\\_English.pdf](https://admin.meddra.org/sites/default/files/guidance/file/intguide_26_1_English.pdf).

- MEDDRA (2023b). MedDRA. Visitato in data 04/11/2023, <https://www.meddra.org/basics>.
- MENICHINCHERI, M. (2010). Progettazione dei Farmaci in "XXI Secolo". Treccani. Visitato in data 16/10/2023, <https://www.treccani.it>.
- MEYBOOM, R. H., EGBERTS, A. C., EDWARDS, I. R., HEKSTER, Y. A., DE KONING, F. H. & GRIBNAU, F. W. (1997). Principles of signal detection in pharmacovigilance. *Drug Safety* **16**, 355–365.
- MINISTERO DELLA SALUTE (2002). La segnalazione spontanea e il suo percorso. *Bollettino d'informazione sui farmaci* **5**, 24–27.
- MONNI, S. (2023). Farmacovigilanza in pediatria. safetydrugs. Visitato in data 26/09/2023, <https://safetydrugs.it/farmacovigilanza-in-pediatria/>.
- MORIDE, Y., HARAMBURU, F., REQUEJO, A. A. & BÉGAUD, B. (1997). Under-reporting of adverse drug reactions in general practice. *British Journal of Clinical Pharmacology* **43(2)**, 177–181.
- NEVILLE, K. A., FRATTARELLI, D. A., GALINKIN, J. L., GREEN, T. P., JOHNSON, T. D., MMM, PAUL, I. M. & VAN DEN ANKER, J. N. (2014). Off-Label Use of Drugs in Children. *Pediatrics* **133(3)**, 563–567.
- OKUNAKA, M., KANO, D., MATSUI, R., KAWASAKI, T. & UESAWA, Y. (2021). Comprehensive Analysis of Chemotherapeutic Agents THAT Induce Infectious Neutropenia. *Pharmaceuticals* **14**, 681.
- OSOKOGU, O. U., FREGONESE, F., FERRAJOLO, C., VERHAMME, K., DE BIE, S., JONG, G., CATAPANO, M., WEIBEL, D., KAGUELIDOU, F., BRAMER, W. M., HSIA, Y., WONG, I. C. K., GAZARIAN, M., BONHOEFFER, J. & STURKENBOOM, M. (2015). Pediatric Drug Safety Signal Detection: A New Drug–Event Reference Set for Performance Testing of Data-Mining Methods and Systems. *Drug Safety* **38(2)**, 207–217.
- PARK, J. J. H., HSU, G., SIDEN, E. G., THORLUND, K. & MILLS, E. J. (2020). An overview of precision oncology basket and umbrella trials for clinicians. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **70(2)**, 125–137.
- PHAM, M., CHENG, F. & RAMACHANDRAN, K. (2019). A Comparison Study of Algorithms to Detect Drug–Adverse Event Associations: Frequentist, Bayesian, and Machine-Learning Approaches. *Drug Safety* **42**, 743–750.

- POLUZZI, E., RASCHI, E., PICCINNI, C. & DE, F. (2012). *Data Mining Applications in Engineering and Medicine*. InTech.
- R CORE TEAM (2022). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- ROBINS, J., GREENLAND, S. & BRESLOW, N. E. (1986). A general estimator for the variance of the Mantel-Haenszel odds ratio. *American Journal of Epidemiology* **124**, 719–723.
- ROSSI, A. C., BOSCO, L., FAICH, G. A., TANNER, A. & TEMPLE, R. (1988). The Importance of Adverse Reaction Reporting by Physicians: Suprofen and the Flank Pain Syndrome. *JAMA* **259(3)**, 1203–1204.
- ROTHMAN, K. J., LANES, S. & SACKS, S. T. (2004). The reporting odds ratio and its advantages over the proportional reporting ratio. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety* **13**, 519–523.
- SHALINI, S. L. (2022). Panoramica sui farmaci. manuale msd, versione per i pazienti. Visitato in data 16/10/23, <https://www.msdmanuals.com/it-it/casa/farmaci/panoramica-sui-farmaci/panoramica-sui-farmaci>.
- SMYTH, R. M. D., GARGON, E., KIRKHAM, J., CRESSWELL, L., GOLDER, S., SMYTH, R. & WILLIAMSON, P. (2012). Adverse drug reactions in children—a systematic review. *PloS One* **7(3)**.
- SZARFMAN, A., MACHADO, S. G. & O’NEILL, R. T. (2002). Use of Screening Algorithms and Computer Systems to Efficiently Signal Higher-Than-Expected Combinations of Drugs and Events in the US FDA’s Spontaneous Reports Database. *Drug Safety* **25**.
- U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, CENTER FOR DRUG EVALUATION AND RESEARCH (CDER) & CENTER FOR BIOLOGICS EVALUATION AND RESEARCH (CBER) (2019). Best Practices in Drug and Biological Product Postmarket Safety Surveillance for FDA Staff .
- VAN NORMAN, G. A. (2016). Drugs, Devices, and the FDA. *JACC: Basic to Translational Science* **1(3)**, 170–179.
- WHO (2002). *The importance of pharmacovigilance: safety monitoring of medicinal products*. World Health Organization Collaborating Centre for International Drug Monitoring.

WILLIAMS, K., THOMSON, D., SETO, I., CONTOPOULOS-IOANNIDIS, D., IOANNIDIS, J., CURTIS, S., CONSTANTIN, E., BATMANABANE, G., HARTLING, L. & KLASSEN, T. (2012). Standard 6: Age groups for pediatric trials. *Pediatrics* **129** Suppl **3**, S153–60.







# Ringraziamenti

A conclusione di questa tesi, vorrei dedicare questo spazio per ringraziare tutti coloro che hanno contribuito con il loro supporto alla sua realizzazione. Un sentito ringraziamento va al mio relatore il Dott. Pietro Belloni, senza il quale questo lavoro non sarebbe stato possibile. Grazie per avermi sempre seguito con disponibilità e gentilezza, per i consigli e per il supporto datomi in ogni step della realizzazione di questo elaborato, dalla scelta dell'argomento fino al suo completamento. Grazie per avermi fornito spunti fondamentali nella stesura e per avermi indirizzato nei momenti di indecisione (e di crisi). Un ringraziamento speciale lo devo alla mia famiglia. Mamma e papà: senza i vostri insegnamenti, la vostra comprensione e il vostro sostegno non sarei mai potuta arrivare fino a qui. Questo traguardo lo dedico soprattutto a voi e ai sacrifici che avete fatto per me. Grazie poi a mio fratello Riccardo, che anche se molte volte non lo dimostro, è un punto fermo nella mia vita. Grazie ai miei amici di sempre, gli "Atumi" – Riccardo, Chiara, Marta, Tommaso, Andrea e Sonia – che hanno alleggerito i miei momenti più pesanti e con cui ho condiviso i momenti più belli. Un grazie speciale lo devo a Riccardo, che mi ha spronato a fare sempre di più ed è stato colui che più mi ha supportato e sopportato in questo percorso. Grazie per esserci. Infine grazie alle amiche di università Giulia, Lucia, Lisa e in particolare Alice, la mia fedele compagna. Il nostro incontro è stato un caso, ma la nostra amicizia durerà anche fuori dalle aule universitarie. *Grazie.*

