

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN BIOINGEGNERIA

*Time-conditional propensity score matching per la
conduzione di studi retrospettivi osservazionali:
simulazione in silico e applicazione al caso della classe di
farmaci SGLT2 inibitori nella nefropatia diabetica.*

Relatore

GIOVANNI SPARACINO

Laureanda

MATILDE MINOTTO

m. 1242278

Correlatori

ENRICO LONGATO

GIAN PAOLO FADINI

(DIPARTIMENTO DI MEDICINA)

ANNO ACCADEMICO 2021-2022

21 FEBBRAIO 2022

Sommario

Il diabete di tipo 2 è una patologia metabolica caratterizzata da un'alterazione dei meccanismi di secrezione o azione dell'insulina. I pazienti diabetici, oltre a presentare livelli elevati di glucosio plasmatico, sono a rischio di svariate e gravi complicanze; tra queste, la nefropatia diabetica risulta essere particolarmente preoccupante. È, infatti, fatto noto che il tasso di incidenza di tale patologia secondaria si attesti su valori prossimi al 40%. Inoltre, la malattia renale diabetica non ha impatto solo sulla qualità di vita dei pazienti, ma esercita anche una considerevole pressione di carattere socio-economico sul Sistema Sanitario Nazionale. Risulta, pertanto, di primaria importanza prevenire o ritardare l'insorgenza di tale complicanza. A questo proposito, l'attenzione della comunità scientifica è rivolta alle opportunità farmacologiche che consentano, in contemporanea, il mantenimento della situazione euglicemica e la gestione della nefropatia diabetica.

Tra le classi di farmaci ipoglicemizzanti ad oggi utilizzate per la gestione terapeutica del diabete di tipo 2, i recentemente introdotti inibitori del co-trasportatore di sodio-glucosio 2 (SGLT2i) sembrano essere, sulla base degli esiti degli studi controllati randomizzati (RCT, randomized controlled trials) sinora condotti, promettenti nel migliorare la prognosi nefrologica dei pazienti diabetici. Tuttavia, a sostegno ed estensione di quanto emerso da tali studi, è necessario valutare l'efficacia comparativa sulla nefropatia diabetica degli SGLT2i rispetto ad altri farmaci situati alla stessa altezza dell'algoritmo terapeutico anche in contesti clinici reali, tramite la conduzione di studi retrospettivi osservazionali (RWS, real world studies). Affinché i risultati di tale tipologia di studi siano affidabili, è d'obbligo l'utilizzo di strumenti metodologici che permettano la stima non polarizzata dell'effetto netto del trattamento sul particolare outcome di interesse. Infatti, lo scenario che si profila nell'ambito di uno studio retrospettivo è più complesso di quello tipico degli studi prospettici, in quanto, nel contesto clinico reale, la scelta del trattamento farmacologico da assegnare a ciascun soggetto è fortemente correlata alle covariate del soggetto stesso. Ne consegue che le caratteristiche dei soggetti trattati con un dato farmaco differiscano in modo sostanziale da quelle dei soggetti trattati con un farmaco alternativo. Appare evidente, dunque, la necessità di tener conto di queste differenze sistematiche tra le due diverse coorti di pazienti nell'intento di stimare l'effetto netto di uno specifico trattamento su di un evento clinico di interesse. Lo stato dell'arte per la correzione per tali agenti confondenti è il propensity score matching (PSM). Questa tecnica per il bilanciamento di due coorti alla baseline nell'ambito di un RWS presenta, tuttavia, un'importante limitazione: è applicabile, per sua stessa natura, al solo caso statico, contraddistinto dall'assenza di modifiche, nel tempo, del piano terapeutico di ciascun paziente. Il contesto terapeutico del diabete

è, invece, fortemente dinamico: l'algoritmo di terapia prevede un andamento additivo e una frequente revisione periodica del piano terapeutico stesso. Per essere aderenti a tale scenario dinamico, è recentemente stata proposta un'estensione del PSM: il time-conditional propensity score matching (TCPSM).

Il presente elaborato si inserisce in questo contesto in maniera duale. Dal punto di vista metodologico, esso si propone di esplorare le performance del PSM in un contesto statico simulato e di implementare, con l'aggiunta di una miglioria rispetto alla proposta reperibile in letteratura, l'innovativo TCPSM (per il quale, allo stato, non sono disponibili librerie software ad hoc). Dal punto di vista dell'applicazione clinica, invece, ambisce a valutare l'effetto degli SGLT2i sulla malattia renale diabetica, mediante la conduzione di due RWS multi-centro, l'uno con la tecnica tradizionale del PSM, l'altro con quella innovativa del TCPSM.

Il presente elaborato è organizzato in cinque capitoli. Il capitolo 1 è dedicato alla delimitazione del contesto clinico e all'esposizione della problematica metodologica relativa alla conduzione di un RWS. Nello specifico, si introducono i dettagli relativi alla patologia diabetica e alle numerose complicanze di cui essa è foriera; tra queste, ci si focalizza principalmente sulla malattia renale diabetica. Si procede, poi, con l'esposizione dei criteri per la diagnosi del diabete di tipo 2, seguita dalla descrizione dell'usuale algoritmo terapeutico previsto per la patologia in oggetto; particolare attenzione è rivolta alla classe di farmaci SGLT2i. Per quanto riguarda l'aspetto metodologico, si descrivono i punti di forza e le limitazioni di un RWS condotto mediante la tecnica tradizionale del PSM, evidenziando le ragioni che spingono all'utilizzo di una tecnica più flessibile, quale il TCPSM. Tale primo capitolo si conclude con la dichiarazione degli obiettivi dell'elaborato e la sintetica presentazione dei suoi contenuti.

Il capitolo 2 è dedicato alla descrizione teorica e implementativa dell'intero processo di conduzione di un RWS mediante le due diverse tecniche di correzione per i confounder oggetto del presente studio: il PSM e il TCPSM. Inoltre, per approfondire il funzionamento della tecnica di matching tradizionale e per valutarne la solidità al variare delle più disparate condizioni sperimentali, si propone anche un framework di simulazione per la conduzione tramite PSM di un RWS con outcome di tipo time-to-event.

Il capitolo 3 è dedicato all'applicazione delle due diverse tecniche di matching al caso clinico reale della valutazione d'efficacia comparativa degli SGLT2i rispetto agli inibitori della dipeptidil peptidasi-4 (DPP4i) sulla nefropatia diabetica. Si fornisce, preliminarmente, una descrizione della struttura del database reale, un database multi-centro contenente i dati di oltre 145 mila soggetti trattati nei centri di diabetologia della Regione Veneto nel periodo compreso tra il 1/01/2010 e il 14/05/2019 e completo di caratteristiche demografiche, antropometriche, esiti degli esami laboratoriali, piano terapeutico e comorbidità in occasione delle visite di controllo periodiche a cadenza irregolare. Si prosegue, poi, con la definizione degli input e degli outcome di interesse. Come input vengono scelte 52 caratteristiche per ogni soggetto, indicative del suo stato clinico, mentre, a indice dello stato di evoluzione della malattia renale, viene assunta come outcome di interesse la slope annualizzata del tasso di filtrazione glomerulare stimato. Si tratta, dunque, di un outcome aggregato lungo l'asse del tempo, più robusto di uno di tipo time-to-event in relazione alle problematiche legate alla censura destra. Si descrivono,

poi, i dettagli specifici dei due RWS multi-centro condotti, rispettivamente, mediante PSM e TCPSM.

Il capitolo 4 è riservato alla presentazione dei risultati. Dalla simulazione in silico statica è emersa una buona abilità del PSM di bilanciare due coorti di pazienti alla baseline nelle condizioni sperimentali più disparate: il successo della tecnica di matching in questione è stato raggiunto nell'80% dei casi. Tuttavia, l'outcome di tipo time-to-event si è rivelato essere problematico al fine della corretta stima dell'effetto medio del trattamento sui trattati: per percentuali medio-alte di censura destra, il processo di stima è destinato al fallimento. Tale constatazione ha giustificato, nei due casi reali, la scelta di una diversa tipologia di outcome di interesse. Per quanto riguarda, invece, il caso reale affrontato tramite PSM, è emerso che gli SGLT2i sono associati a una migliore prognosi della nefropatia diabetica rispetto ai DPP4i. Un risultato analogo è stato ottenuto dall'RWS condotto tramite TCPSM in relazione al medesimo problema clinico. In aggiunta, dal confronto a step paralleli tra i due diversi RWS in questione si è potuto constatare quanto a priori ipotizzato: la superiorità del TCPSM sul PSM consiste nella capacità di includere nell'analisi tutti i soggetti che apportano modifiche al piano terapeutico, rispecchiando le reali dinamiche dello scenario clinico.

Il capitolo 5 conclude l'elaborato mediante una ricapitolazione dei principali risultati ottenuti e una delineazione dei possibili sviluppi futuri, riguardanti sia l'estensione formale del framework di simulazione statico a tipologie di outcome diverse da quella time-to-event e all'ambito della conduzione degli RWS con il metodo del TCPSM, sia lo sviluppo di un pacchetto software per l'implementazione automatica del TCPSM.

Indice

Sommario	i
1 Real world studies per la valutazione clinica di farmaci ipoglicemizzanti nella terapia diabetica e sfide metodologiche	1
1.1 Il diabete di tipo 2 e le sue complicanze renali	1
1.2 La diagnosi di diabete di tipo 2 e l’algoritmo terapeutico	4
1.2.1 La classe di farmaci SGLT2 inibitori e la loro valutazione mediante studi controllati randomizzati (RCT) e studi retrospettivi osservazionali (RWS)	6
1.3 Lo stato dell’arte per la conduzione di RWS: il propensity score matching (PSM)	7
1.4 Problemi aperti negli RWS e possibile soluzione mediante il time-conditional propensity score matching (TCPSM)	9
1.5 Obiettivi della tesi e presentazione dei contenuti	10
2 Le tecniche di matching basate sul calcolo dei propensity score	13
2.1 Descrizione teorica della conduzione di uno studio retrospettivo osservazionale tramite PSM	13
2.1.1 Studio di simulazione nel caso statico	16
2.2 Un’estensione al caso dinamico: il TCPSM	18
3 Il caso di studio: SGLT2 inibitori contro DPP4 inibitori nella nefropatia diabetica	21
3.1 Struttura del database e definizione degli input e outcome di interesse	21
3.2 Il caso reale statico	24
3.3 Il caso reale dinamico	26
4 Risultati	31
4.1 La simulazione in silico statica	31
4.2 Il caso reale statico affrontato mediante PSM	34
4.3 Il TCPSM per la gestione del caso reale dinamico	41
5 Conclusioni e sviluppi futuri	49
5.1 Bilancio del lavoro svolto	49
5.1.1 Base di partenza	49
5.1.2 Contributo metodologico dell’elaborato	50

5.1.3	Sommario dei risultati	50
5.2	Sviluppi futuri	51
	Bibliografia	53

Elenco delle tabelle

1.1	Prognosi di insufficienza renale cronica tramite gli indicatori albuminuria e tasso di filtrazione glomerulare.	3
3.1	Covariate in input ai metodi di matching.	22
3.2	Distribuzione dei missing data nel database statico pre-processato.	26
3.3	Distribuzione dei missing data nel database dinamico pre-processato.	28
4.1	Percentuale di successi nella stima dell'effetto medio del trattamento sui trattati al variare del valore degli iperparametri.	33
4.2	Covariate dei pazienti prima e dopo il propensity score matching.	38
4.3	Covariate dei pazienti prima e dopo il time-conditional propensity score matching.	45

Elenco delle figure

4.1	Descrizione visiva tramite flowchart del framework generale dello studio condotto tramite propensity score matching.	34
4.2	Modulo della standardised mean difference delle covariate dei pazienti prima e dopo il propensity score matching.	36
4.3	Boxplot della slope annualizzata del tasso di filtrazione glomerulare stimato nelle due sub-coorti di pazienti dopo il propensity score matching.	37
4.4	Descrizione visiva tramite flowchart del framework generale dello studio condotto tramite time-conditional propensity score matching.	41
4.5	Modulo della standardised mean difference delle covariate dei pazienti prima e dopo il time-conditional propensity score matching.	43
4.6	Boxplot della slope annualizzata del tasso di filtrazione glomerulare stimato nelle due sub-coorti di pazienti dopo il time-conditional propensity score matching.	45

Capitolo 1

Real world studies per la valutazione clinica di farmaci ipoglicemizzanti nella terapia diabetica e sfide metodologiche

1.1 Il diabete di tipo 2 e le sue complicanze renali

Il diabete mellito è un insieme eterogeneo di malattie metaboliche, diverse fra loro per eziopatogenesi, caratterizzate da iperglicemia e da disturbi multipli del metabolismo glucidico, lipidico, proteico e ionico [1]. La causa delle predette patologie è una ridotta secrezione di insulina, una limitata azione dell'insulina stessa, o una combinazione di entrambi questi fattori [2]. L'insulina è un ormone di natura peptidica, secreto dalle cellule β delle isole pancreatiche del Langerhans, con la principale funzione di veicolare il passaggio del glucosio dal flusso ematico alle cellule, con conseguente azione ipoglicemizzante.

All'interno della macrocategoria costituita dal diabete mellito è possibile operare alcune suddivisioni:

- il diabete di tipo 1;
- il diabete di tipo 2;
- il diabete gestazionale;
- altre tipologie di diabete.

Il diabete di tipo 1, noto anche come diabete giovanile o insulino-dipendente, si manifesta prevalentemente al di sotto dei vent'anni, in modo improvviso. Si tratta di una forma di diabete immuno-mediata; una disfunzione a carico del sistema immunitario, infatti, fa sì che le cellule β pancreatiche vengano riconosciute come estranee e, di conseguenza, annientate. L'assenza di queste particolari cellule determina una secrezione del tutto insufficiente dell'ormone insulinico, che deve essere somministrato al paziente da fonti esterne. Contrariamente, il diabete di tipo 2, chiamato anche diabete mellito non insulino-dipendente, è caratterizzato da un contesto di insulino-resistenza (ossia di diminuzione della capacità delle cellule dei tessuti bersaglio di

rispondere all'azione dell'insulina) e insulino-deficienza relativa (diversamente dal diabete di tipo 1, caratterizzato, come segnalato, da un'insulino-deficienza assoluta). Il diabete mellito gestazionale, invece, si manifesta in associazione allo stato di gravidanza; viene generalmente diagnosticato nel secondo o terzo trimestre di gestazione ed è, tipicamente, un disordine metabolico di carattere transitorio. Esistono, poi, altri tipi di diabete dovuti ad altre cause, quali le sindromi da diabete monogeniche (come il diabete neonatale), il diabete connesso a malattie del pancreas esocrino (come la pancreatite) e il diabete indotto da sostanze chimiche (come i glucocorticoidi, utilizzati nel trattamento dell'HIV o a seguito del trapianto di organi) [3].

La più comune tipologia di diabete è il diabete di tipo 2, che, oltre a rappresentare più del 90% dei casi, ha un tasso di incidenza in continua crescita a livello mondiale [4]. La causa dell'insorgenza della malattia è poligenica e multifattoriale: i principali elementi che possono influire sul suo sviluppo sono costituiti dallo stile di vita, da fattori genetici e dall'età del paziente. La sedentarietà e la sottoposizione a stress severo costituiscono importanti fattori di rischio, ma altrettanto si può dire con riferimento alla condizione di sovrappeso e all'obesità (che si riscontra in presenza di un indice di massa corporea – BMI, body mass index – superiore a 30). L'insulino-resistenza, infatti, si sviluppa con l'accumulo di grasso ectopico nel fegato, nei muscoli e nel pancreas, contribuendo a causare il declino della funzionalità delle cellule β [5]. Anche la composizione della dieta può influire sia sullo sviluppo che sulle complicanze del diabete di tipo 2. È stato osservato, infatti, che i grassi alimentari sono in grado di influenzare il metabolismo del glucosio, alterando la sensibilità all'insulina [6]. Il rischio di sviluppare la patologia aumenta, inoltre, con l'età: l'esordio della malattia è spesso riscontrato dopo i 40 anni, nonostante il diabete di tipo 2 colpisca anche individui più giovani [7].

I pazienti affetti da diabete di tipo 2 possono essere asintomatici per anni o, addirittura, decenni e mostrare solo una lenta progressione della malattia. Una volta manifestatasi, tuttavia, la patologia in questione presenta il carattere della cronicità ed è in grado di causare numerose complicanze. Dato anche il progressivo invecchiamento della popolazione mondiale, appare di primaria importanza la prevenzione delle complicanze diabetiche. Tra queste, vengono in rilievo:

- patologie a carico del sistema cardiovascolare, quali ipertensione, cardiopatia e ictus. In particolare, i pazienti con diabete di tipo 2 hanno un rischio da 2.5 a 5 volte più alto del normale di sviluppare complicanze microvascolari; l'iperglicemia cronica è anche associata a un rischio 5 volte maggiore di sviluppare malattie delle arterie periferiche [8];
- disturbi oculari, come retinopatia emorragico-essudativa e retinopatia proliferativa, responsabile quest'ultima della perdita o di una grave riduzione della vista e che richiede, data la sua gravità, interventi tempestivi;
- neuropatie a carico del sistema nervoso (nel 30% dei casi sotto forma di intorpidimento e formicolio agli arti);
- disfunzioni cognitive, come malattia di Alzheimer e demenza vascolare;

1.1. Il diabete di tipo 2 e le sue complicanze renali

- complicanze renali, la principale delle quali è la nefropatia diabetica, caratterizzata da insufficienza renale cronica, che può sfociare in insufficienza renale allo stadio terminale (definibile quale declino irreversibile della funzione renale) [5].

È opportuno soffermarsi, in particolare, sulle appena menzionate complicanze renali, dal momento che esse risultano molto frequenti in pazienti affetti da diabete di tipo 2: nell'ambito di un recente studio inglese si è rilevato che, a circa 15 anni dalla diagnosi di diabete di tipo 2, quasi il 40% dei pazienti sviluppa complicanze renali [9]. È allarmante notare come il diabete di tipo 2 sia addirittura riconosciuto come la principale causa nel mondo occidentale di insufficienza renale terminale e di ricorso alla dialisi [9]. Inoltre, esso è causa in un significativo numero di pazienti di insufficienza renale cronica, consistente nella perdita progressiva della funzione renale. Lo stadio della progressione della malattia è identificato in base a due parametri combinati, come si evince dalla tabella 1.1 [10]: da un lato, il tasso di filtrazione glomerulare (GFR, glomerular filtration rate); dall'altro, dall'albuminuria (ossia una perdita di albumina con le urine in quantità superiore al limite ritenuto fisiologico). Più diminuisce il GFR e più aumenta l'albuminuria, più la patologia renale è considerata grave.

Tabella 1.1: Prognosi di insufficienza renale cronica tramite gli indicatori albuminuria e tasso di filtrazione glomerulare.

Note: i colori simboleggiano la gravità della malattia renale cronica; il colore rosso rappresenta la malattia severa, l'arancione quella moderata, il giallo quella mite e il verde la condizione euclinica.

Abbreviazioni: GFR, tasso di filtrazione glomerulare; mitem., mitemente; moderatam., moderatamente; severam., severamente.

			GFR [mL/min/1.73 m ²]					
			G1	G2	G3a	G3b	G4	G5
			Normale o alto	Mitem. diminuito	Da mitem. a moderatam. diminuito	Da moderatam. a severam. diminuito	Severam. diminuito	Scompenso renale terminale
			>90	60-90	45-59	30-44	15-29	<15
Albuminuria	A1	Da normale a mitem. aumentata <30 mg/g <3 mg/mmol						
	A2	Moderatam. aumentata 30-300 mg/g 3-30 mg/mmol						
	A3	Severam. aumentata >300 mg/g >30 mg/mmol						

Albuminuria e riduzione del GFR sono, dunque, manifestazioni gemelle dell'insufficienza renale; esse, tuttavia, non necessariamente coesistono in ogni singolo paziente affetto da diabete di tipo 2 [11]: è comune, infatti, che i pazienti progrediscano a un grado significativo di insufficienza renale con una riduzione anche notevole del filtrato glomerulare, pur rimanendo normoalbuminurici [12]. È preoccupante constatare che, a fronte del miglioramento negli ultimi anni della prognosi cardiovascolare nelle persone affette da diabete di tipo 2, dovuto principalmente a un'adeguata pianificazione della terapia farmacologica, il numero di pazienti che sviluppano un'insufficienza renale allo stadio terminale e che sono costretti a ricorrere alla dialisi non si sta, viceversa, riducendo. Tra i soggetti affetti da patologia renale cronica

si registrano ancora tassi di mortalità elevati e una riduzione della vita media di circa 16 anni; la qualità della vita dei pazienti affetti da insufficienza renale cronica è, inoltre, generalmente scarsa [13]. È necessario, quindi, focalizzare l'attenzione sulle opportunità terapeutiche che consentano, contemporaneamente, il controllo glicemico e la prevenzione delle complicanze renali, almeno per le categorie di soggetti più a rischio.

1.2 La diagnosi di diabete di tipo 2 e l'algoritmo terapeutico

La diagnosi di diabete di tipo 2 può essere effettuata attraverso opportuni esami di laboratorio. L'attuale gold standard prevede la misurazione del glucosio nel plasma venoso. In particolare, un soggetto può essere considerato affetto dalla malattia ove ricorra almeno una delle seguenti condizioni [2]:

- emoglobina glicata (HbA1c, un parametro di laboratorio che fornisce una valutazione media del glucosio negli ultimi 2-3 mesi) con valori superiori a 6.5% (≥ 48 mmol/mol);
- glucosio plasmatico a digiuno (FPG, fasting plasma glucose), rilevato dopo almeno 8 ore di digiuno, con valori uguali o superiori a 126 mg/dL (≥ 7 mmol/L);
- glucosio plasmatico, misurato dopo 2 ore dall'inizio del test orale di tolleranza al glucosio (OGTT, oral glucose tolerance test), comportante l'assunzione per via orale di una bevanda contenente 75 g di glucosio, con valori uguali o superiori a 200 mg/dL (≥ 11.1 mmol/L);
- glucosio con valore uguale o superiore a 200 mg/dL, misurato in un momento qualsiasi della giornata in presenza di sintomi tipici della malattia (≥ 11.1 mmol/L).

In particolare, la misurazione dell'HbA1c è considerabile come strumento diagnostico primario per la valutazione dell'insorgenza del diabete. Valori di HbA1c $\geq 6.5\%$ danno una certezza sufficientemente alta da giustificare una diagnosi di diabete, mentre valori di HbA1c $< 5.7\%$ permettono di escludere la diagnosi stessa. Quando il livello di HbA1c è compreso tra 5.7 e 6.4%, il risultato è considerato incerto ed è raccomandato ricorrere a uno degli ulteriori criteri diagnostici indicati.

Per il trattamento ottimale dei pazienti affetti da diabete di tipo 2 è necessario adottare un approccio globale, focalizzato sulla pianificazione di un adeguato ed individualizzato regime alimentare, di un costante esercizio fisico e di terapie farmacologiche per prevenire e gestire le complicanze della malattia. Il ricorso alle terapie farmacologiche è raccomandato quando le modifiche dello stile di vita, inclusive di dieta, esercizio fisico e perdita di peso, non risultino sufficienti per porre adeguatamente rimedio all'iperglicemia. I farmaci tipicamente usati nella cura del diabete sono numerosi. I più utilizzati, in particolare, sono: metformina, acarbosio, inibitori del co-trasportatore di sodio-glucosio 2 (SGLT2i), agonisti del recettore di glucagon-like peptide 1 (GLP-1RA), pioglitazone, inibitori della dipeptidil peptidasi-4 (DPP4i), insulina e sulfaniluree. Tali farmaci, accomunati dalla circostanza di essere in grado di abbassare il valore

di HbA1c, presentano diversi meccanismi d'azione e diversi effetti sulla glicemia a digiuno e/o postprandiale [8], di cui l'algoritmo terapeutico tiene conto al fine di individuare la miglior terapia farmacologica da somministrare a ciascun paziente. Studi recenti evidenziano che, una volta scelto il regime terapeutico per ciascun paziente, esso non deve considerarsi immutabile nel tempo, ma deve essere rivalutato a intervalli regolari (ogni 3-6 mesi) e adattato secondo necessità all'evoluzione clinica delle condizioni del paziente [14].

L'algoritmo terapeutico del diabete di tipo 2 contempla, nell'assoluta maggioranza dei casi, la metformina come farmaco di prima scelta: per molti pazienti si tratta di una monoterapia in combinazione con modifiche dello stile di vita. La metformina è un farmaco efficace e sicuro, anche in pazienti con velocità di filtrazione glomerulare stimata ridotta (eGFR, estimated glomerular filtration rate), da somministrare una o due volte al giorno; esso, inoltre, presenta il vantaggio di essere poco costoso [14]. Nei casi in cui la metformina non risulti sufficiente a raggiungere l'obiettivo terapeutico stabilito (l'American Diabetes Association (ADA) raccomanda un obiettivo di HbA1c inferiore al 7% per gli adulti), si provvede alla somministrazione di uno o più farmaci aggiuntivi, realizzando una terapia di combinazione farmacologica [14]. Per questo motivo, dunque, la terapia del diabete di tipo 2 è definita additiva. In particolare, gli SGLT2i, i DPP4i e i GLP-1RA sono situati alla stessa altezza dell'algoritmo terapeutico e vengono definiti farmaci di seconda linea. In base ad alcuni studi condotti dall'American College of Physicians (ACP), le terapie combinate di due o più farmaci sono risultate in grado di ridurre i livelli di HbA1c in media di 1 punto percentuale aggiuntivo rispetto alla monoterapia [15]. Non esiste tuttavia, allo stato, una regola suffragata da evidenze scientifiche certe che indichi quale sia la combinazione di agenti ipoglicemizzanti più efficace in termini assoluti; l'approccio risulta, di conseguenza, individualizzante e si basa sulle condizioni cliniche e sulle preferenze di ciascun paziente [16]. Alcune linee guida, tuttavia, sono state individuate con riferimento ad alcune categorie di pazienti:

- ove si tratti di soggetti affetti da patologie cardiache, aterosclerosi o insufficienza renale cronica, la scelta consigliabile per un secondo agente è un GLP-1RA o un SGLT2i [14]. Si tratta di farmaci molto efficaci nella riduzione del livello di HbA1c, comportanti un basso rischio di ipoglicemia e moderatamente in grado di ridurre la probabilità di eventi cardiovascolari di maggiore entità e in genere della mortalità del paziente. Essi hanno, inoltre, effetti favorevoli sul peso corporeo;
- ove l'iperglicemia sia grave, soprattutto se sono presenti caratteristiche cataboliche (perdita di peso, ipertrigliceridemia, chetosi) il secondo farmaco consigliato da aggiungere alla metformina va individuato nell'insulina [14];
- le sulfaniluree, viceversa, risultano avere minore efficacia a lungo termine, con rischio di ipoglicemia e mortalità maggiori delle altre classi di farmaci; secondo le più recenti linee guida elaborate dalla Società Italiana Diabetologia (SID) e dall'Associazione Medici Diabetologi (AMD), esse non dovrebbero pertanto essere più considerate nel trattamento del paziente affetto da diabete di tipo 2.

1.2.1 La classe di farmaci SGLT2 inibitori e la loro valutazione mediante studi controllati randomizzati (RCT) e studi retrospettivi osservazionali (RWS)

Gli SGLT2i sono tra i farmaci ipoglicemizzanti di più recente introduzione. I co-trasportatori di sodio-glucosio (di due tipologie, SGLT1 e SGLT2) sono proteine che si trovano principalmente nei reni e svolgono un ruolo importante nell'omeostasi del glucosio: l'SGLT2 è responsabile del riassorbimento del 90% del glucosio, l'SGLT1 del restante 10%. Gli SGLT2i, in particolare, agiscono inibendo l'attività dell'SGLT2: essi aumentano l'escrezione urinaria di glucosio, con conseguente riduzione della glicemia.

Dal 2014, anno di ingresso nel mercato della classe di farmaci SGLT2i, sono stati effettuati numerosi studi controllati randomizzati (RCT, randomized controlled trials) e retrospettivi osservazionali (RWS, real world studies), focalizzati sugli effetti benefici che tali farmaci producono sull'organismo. Gli RCT sono studi prospettici dal design controllato, in cui l'assegnazione dei soggetti all'una o all'altra classe di farmaci (di cui uno è il farmaco sotto analisi, l'altro è il farmaco assunto come comparatore, detto controllo) avviene prima dell'avvenimento dell'outcome di interesse, su decisione del conduttore dell'esperimento. Al contrario, gli RWS sono studi retrospettivi, in cui sia l'assegnazione al farmaco sia gli eventi di interesse sono già accaduti nel momento in cui si considera il database per l'analisi [17]. In entrambe le tipologie di studi ci si è soffermati, in particolare, sugli esiti cardiovascolari: si è constatato che essi sono in grado di incidere positivamente sul peso corporeo e di migliorare la pressione sanguigna (risultando farmaci ideali per soggetti obesi o ipertesi), oltre che di ridurre significativamente il rischio di gravi eventi cardiovascolari avversi e di ospedalizzazione dei pazienti per insufficienza cardiaca [18]. Secondo alcune evidenze preliminari [18], gli SGLT2i sarebbero addirittura più efficaci, per quanto concerne la riduzione del peso e della pressione sanguigna arteriosa, rispetto ad altri farmaci di seconda linea, come per esempio i DPP4i, che tuttavia risultano attualmente molto più utilizzati nella cura del diabete di tipo 2, anche in virtù del costo comparativamente più basso.

Meno studiati risultano gli effetti degli SGLT2i sulla funzionalità renale. Dagli RCT sinora condotti è emersa l'idoneità di questi farmaci a ridurre la velocità di progressione della patologia renale, il declino del GFR e lo sviluppo di insufficienza renale terminale. Tuttavia, la validità di questi risultati preliminari non è da sopravvalutare. Da un lato, infatti, le complicanze renali sono spesso state trattate come output secondari dell'analisi; dall'altro lato, a causa degli stringenti criteri di inclusione caratteristici degli RCT, spesso sono state considerate solo categorie circoscritte di pazienti, rappresentativi di una piccola porzione della popolazione diabetica. A proposito di quest'ultimo aspetto, in alcuni studi, che pure hanno ottenuto risultati sorprendenti, sono stati presi in analisi solamente soggetti ad alto rischio cardiovascolare o renale (il trial CREDENCE [19], per esempio, ha analizzato solamente la poco diffusa categoria di soggetti diabetici con insufficienza renale al secondo e terzo stadio e con macroalbuminuria); in altri, la percentuale di pazienti con insufficienza renale cronica risultava molto bassa (trial EMPA-REG [20], CANVAS [21] e DAPA-CKD [22]).

Gli RCT, benchè siano lo strumento privilegiato per la valutazione dell'efficacia di un farmaco, hanno alcune importanti limitazioni: rendono impossibile l'inclusione di tutti i fenotipi della popolazione di interesse, prendono in considerazione scenari molto diversi dalla situazione della pratica clinica quotidiana (includono pochi pazienti, finemente selezionati, diligenti e con follow-up regolare), sono costosi in termini di risorse e tempo. In assenza, dunque, di una solida ed ulteriore evidenza fornita dagli RCT sulle potenzialità nefroprotettive degli SGLT2i per la popolazione diabetica con l'intero fenotipo di funzione renale, è innegabile l'importanza degli RWS. Gli RWS, sebbene non possano sostituire gli RCT nella valutazione d'efficacia di un farmaco, forniscono risultati di evidenza sempre maggiore, in virtù del fatto che sono in grado di rispecchiare lo scenario della reale pratica clinica e di rappresentare l'intera popolazione di interesse. In aggiunta, essi richiedono sforzi minori in termini economici o di tempo rispetto agli RCT. Gli RWS finora condotti (tra cui CVD-Real 3 [23], in particolare), che pure hanno confermato gli esiti degli RCT e hanno anzi dimostrato la maggior efficacia degli SGLT2i rispetto ad altri farmaci di seconda linea (quali i DPP4i) nella riduzione del rischio di malattia renale, hanno fornito dati non clinicamente significativi, in virtù del termine breve di osservazione dei pazienti e di alcune limitazioni metodologiche [13].

Gli esiti ottenuti dai predetti studi sono di innegabile importanza, ma necessitano di ulteriori conferme: per una migliore allocazione di risorse, occorre appurare se gli SGLT2i siano in grado di produrre effetti benefici sulla funzionalità renale anche con riferimento a pazienti diabetici con fenotipi diversi da quelli presi in esame dai citati RCT, in particolare quelli con albuminuria normale e/o normale funzione renale, che rappresentano una buona maggioranza della popolazione diabetica. Gli RWS, dunque, se ben progettati e condotti con tecniche appropriate, hanno il potenziale di confermare i risultati degli studi finora effettuati e renderli generalizzabili all'intera popolazione di pazienti diabetici [13].

1.3 Lo stato dell'arte per la conduzione di RWS: il propensity score matching (PSM)

Posta l'importanza universalmente riconosciuta dei risultati forniti dagli RWS ben progettati nel contesto della valutazione dell'efficacia comparativa di due farmaci, è necessario soffermarsi sulle tecniche più appropriate per un'accurata conduzione degli studi stessi.

Gli RWS, con particolare riferimento al caso specifico dell'applicazione alle complicanze diabetiche renali, presentano molteplici problemi:

1. *channelling bias*: i pazienti assegnati al trattamento con i due diversi farmaci presentano caratteristiche anagrafiche, antropometriche e cliniche differenti;
2. *time lag bias*: i soggetti manifestano diversi stadi di evoluzione della malattia renale, pur avendo covariate simili;

3. conditioning on the future: l'analisi dell'outcome di interesse implica la disponibilità dei dati post-index date. Con l'espressione index date ci si riferisce alla data di inizio del periodo di follow-up;
4. eterogeneità del database: spesso i database sono frutto dell'aggregazione di dati a partire da diverse tipologie di centri di cura;
5. follow-up breve.

A fronte di queste problematiche, si espongono di seguito le soluzioni metodologiche proposte dalla letteratura [13]:

1. per ovviare al problema del channelling bias, lo stato dell'arte come tecnica per la conduzione degli RWS è il propensity score matching (PSM). Il PSM è una tecnica di matching per ottenere coorti di pazienti simili alla baseline, di cui si esporranno i dettagli teorici nella sezione 2.1;
2. in riferimento al time lag bias, è opportuno includere il valore dell'eGFR alla baseline tra le variabili considerate per il calcolo dei propensity score (PS) all'interno della procedura di matching;
3. per la problematica relativa alla disponibilità dei valori futuri rispetto all'index date dell'outcome di interesse, è consigliato non imporre requisiti stringenti sulla reperibilità dei dati stessi, lasciando che la raccolta delle informazioni avvenga come in uso nella quotidiana pratica clinica;
4. per evitare l'eterogeneità del database, si propone di limitare il database stesso ad un'unica tipologia di centri di cura (come, ad esempio, i centri di diabetologia, strutture sanitarie altamente specializzate per la patologia in questione);
5. gli studi preliminari mostrano che è necessario prolungare il periodo di follow-up fino ad un minimo di tre anni per ottenere risultati statisticamente significativi.

Entrando nel vivo della questione, centrale rispetto agli obiettivi della tesi e accennata al punto 1 degli elenchi precedenti, è importante sottolineare che negli RWS la scelta del trattamento è spesso influenzata dalle caratteristiche del paziente in questione. Di conseguenza, spesso le caratteristiche alla baseline dei soggetti trattati con un farmaco differiscono in modo sostanziale da quelle dei soggetti trattati con il secondo farmaco. Pertanto, quando si stimano gli effetti del trattamento sull'outcome di interesse, è fondamentale tenere in considerazione le differenze sistematiche delle caratteristiche alla baseline dei soggetti appartenenti alle due diverse coorti [24]. Per raggiungere tale obiettivo sono state proposte diverse tecniche di analisi per il controllo per gli agenti confondenti (altresì detti confounder) [25]; tra queste, il PSM è, oggi, universalmente assunto come gold standard per la conduzione degli RWS. Si tratta di una tecnica di matching che si propone di bilanciare due coorti di pazienti alla baseline simulando un design di tipo randomizzato all'interno di uno studio retrospettivo osservazionale [26].

1.4. Problemi aperti negli RWS e possibile soluzione mediante il time-conditional propensity score matching (TCPSM)

In altre parole, il PSM si basa sull'idea che è possibile ottenere sottoinsiemi di coorti bilanciate costruendo coppie di soggetti comprendenti un soggetto per coorte in modo tale che si equivalgano le loro probabilità a posteriori di essere trattati con l'uno o con l'altro farmaco, date le loro covariate. Tale idea è mutuata, per l'appunto, dagli RCT: in tali contesti, la randomizzazione fa sì che le probabilità di due generici soggetti di essere sottoposti a uno stesso trattamento siano uguali e indipendenti dalle covariate dei soggetti stessi.

Questo strumento metodologico, seppur potente ed efficace, può essere usato solo nell'ambito degli RWS con design di tipo incident new-user [27]: si tratta di situazioni, abbastanza frequenti nell'ambito degli studi d'efficacia comparativa di due farmaci condotti usando database ospedalieri reali, in cui i soggetti trattati con l'uno dei due farmaci non hanno mai assunto in precedenza l'altro farmaco. Pertanto, il PSM può essere applicato solo a contesti statici, in cui non sono ammessi i cambi di terapia da un farmaco all'altro.

1.4 Problemi aperti negli RWS e possibile soluzione mediante il time-conditional propensity score matching (TCPSM)

Come spiegato nella sezione 1.2, la terapia farmacologica per il trattamento del diabete di tipo 2 è di tipo additivo ed è sottoposta ad una sistematica revisione periodica. Di conseguenza, è fatto assai frequente che un soggetto trattato con il farmaco di interesse nell'ambito di un RWS abbia precedentemente fatto uso del farmaco assunto come controllo. Appare evidente, quindi, che, in base a quanto detto nella sezione 1.3 relativamente alle assunzioni di base del PSM, l'applicazione del metodo in questione alla valutazione d'efficacia di un farmaco nel contesto delle complicanze diabetiche possa essere limitante. Infatti, in queste circostanze, il metodo:

- non è in grado di cogliere la complessità dello scenario clinico reale, in quanto tutti i soggetti che effettuano un cambio di terapia (detti switcher) vengono esclusi dall'analisi;
- è causa di una riduzione importante del sample size di partenza, che potrebbe portare, a sua volta, a una riduzione della potenza statistica dei risultati dello studio.

Appare, dunque, impellente il bisogno di sviluppare una tecnica di matching per il bilanciamento delle coorti alla baseline che sia in grado di includere nell'analisi anche i molti soggetti che apportino modifiche al proprio piano terapeutico. Questo particolare contesto dinamico è detto prevalent new-user design ed è molto frequente nell'ambito degli RWS. Infatti, oltre al particolare caso appena menzionato della terapia diabetica, uno scenario simile si profila tutte le volte in cui c'è la necessità di testare l'efficacia di un farmaco di nuova introduzione sul mercato, per il quale non c'è un diretto contemporaneo comparatore. Anche in questo caso, molto comune negli studi di farmacoepidemiologia, è probabile che molti dei soggetti trattati con il nuovo farmaco siano stati sottoposti in precedenza alla cura con il farmaco assunto come controllo. Nel caso reale che si esaminerà nel prosieguo di questo elaborato, che prevede il confronto tra gli SGLT2i e i DPP4i sulla nefropatia diabetica, si riscontrano entrambi i fatti appena menzionati: il cambio di terapia da DPP4i a SGLT2i si verifica sia in virtù della gestione

fluida della terapia farmacologica del diabete, sia poichè gli SGLT2i sono farmaci di più recente introduzione rispetto ai DPP4i.

Il metodo recentemente proposto al fine di gestire questo scenario dinamico è il cosiddetto time-conditional propensity score matching (TCPSM) [28], che verrà descritto nel dettaglio nella sezione 2.2. Si tratta di un'evoluzione del tradizionale PSM statico, capace di adattarsi al particolare contesto dinamico. Pertanto, l'idea alla base del TCPSM è la stessa che anima il PSM, ma il calcolo dei PS avviene sulla base delle covariate tempo-varianti dei soggetti. A miglioramento di quanto avveniva con il PSM, il TCPSM è in grado di:

- cogliere la complessità del contesto clinico reale;
- includere nell'analisi tutti i pazienti trattati con il farmaco di interesse, senza escludere coloro che effettuano cambi di terapia;
- offrire una valutazione più realistica sulla sicurezza e sull'efficacia di un dato farmaco, anche di recentissima introduzione sul mercato;
- considerare sample size più ampi, con maggiore rilevanza statistica dei risultati ottenuti.

È opportuno mettere in risalto che, tra le migliori sopra elencate che il TCPSM è in grado di apportare rispetto al PSM, quella più eclatante è rappresentata dalla capacità del metodo tempo-dipendente di rilevare le reali dinamiche dello scenario clinico dei pazienti diabetici, considerando nell'analisi anche i molti soggetti che modificano il proprio piano terapeutico. Inoltre, è bene sottolineare che il TCPSM è uno strumento metodologico di cui, allo stato delle cose, si sono registrate solo poche realizzazioni nella letteratura. Sarà, dunque, obiettivo di questo elaborato implementare il metodo in questione e applicarlo al caso reale della valutazione d'efficacia degli SGLT2i rispetto ai DPP4i sulla nefropatia diabetica.

1.5 Obiettivi della tesi e presentazione dei contenuti

Alla luce di quanto fin qui presentato, si evidenziano alcune problematiche sia cliniche, sia metodologiche.

Dal punto di vista clinico, l'incidenza del diabete di tipo 2 è in continuo aumento e le molteplici complicanze di cui esso è foriero si rilevano essere molto di impatto sulle condizioni di vita dei pazienti, così come un gravoso onere per il Sistema Sanitario Nazionale. Pertanto, è di primaria importanza lo studio accurato delle possibilità terapeutiche che permettano il contemporaneo mantenimento della situazione euglicemica e la prevenzione delle complicanze diabetiche, con particolare riferimento a quelle nefrologiche. In questo contesto, è importante approfondire le proprietà terapeutiche degli SGLT2i, farmaci ipoglicemizzanti di recente immissione nel mercato che, dai risultati delle analisi preliminari, risultano essere più promettenti di altri farmaci di seconda linea, primi tra tutti i DPP4i.

Dal punto di vista metodologico, è opportuno condurre degli RWS per confermare i risultati preliminari ottenuti tramite gli RCT sulla sicurezza ed efficacia dei farmaci in questione ed

estenderli alle tipologie di pazienti diabetici più disparate. Affinchè i risultati degli RWS siano significativi e generalizzabili, è necessario adottare le più promettenti tecniche di analisi per il controllo per i confounder, che siano in grado di gestire non solo il caso statico, ma anche il più complesso caso dinamico.

Gli obiettivi che si intendono raggiungere, come bioingegneri, con il presente elaborato sono, dunque, i seguenti:

- proporre un framework di simulazione per la conduzione degli studi retrospettivi osservazionali con outcome di tipo time-to-event tramite la tecnica tradizionale del PSM;
- applicare il metodo del PSM statico al caso reale della valutazione d'efficacia della classe di farmaci SGLT2i rispetto ai DPP4i sulla nefropatia diabetica;
- implementare il metodo TCPSM (con l'aggiunta di una miglioria metodologica rispetto alla proposta originale [28], ovvero l'aggiunta di un calibro) e applicarlo al caso reale della valutazione dell'efficacia comparativa degli SGLT2i e dei DPP4i nella malattia renale diabetica.

Il prosieguo del presente elaborato è organizzato come di seguito descritto. Nel capitolo 2 si fornirà una descrizione puramente teorica della conduzione di un RWS con evento di interesse di tipo time-to-event tramite la tecnica tradizionale statica del PSM. Inoltre, al fine di comprendere meglio il funzionamento della tecnica di matching in questione in un contesto di tale tipo, verrà proposto un framework di simulazione per il caso statico. A chiusura del medesimo capitolo verrà fornita la descrizione teorica del metodo TCPSM, alternativo al PSM e in grado di sopperire alle sue criticità nella gestione dello scenario dinamico. Si procederà, nel capitolo 3, con l'applicazione di entrambe le tecniche di matching poc'anzi menzionate al caso reale clinico dell'efficacia comparativa delle due classi di farmaci SGLT2i e DPP4i sulla nefropatia diabetica. Nel capitolo 4 si analizzeranno i risultati ottenuti in tutte e tre le circostanze: lo scenario simulato statico, il caso reale statico affrontato mediante PSM, il caso reale dinamico gestito tramite TCPSM. In particolare, dalla simulazione statica si evincerà che il PSM è efficace nella creazione di due sotto-coorti di pazienti con caratteristiche simili alla baseline, ma l'outcome di tipo time-to-event con percentuali medio-alte di censura destra può condurre al fallimento del processo di stima dell'effetto netto del trattamento sull'evento clinico di interesse, giustificando la scelta di un outcome di tipo diverso nei due RWS condotti nel presente elaborato. Inoltre, i due RWS effettuati, rispettivamente, tramite PSM e TCPSM forniranno evidenza a favore delle caratteristiche nefroprotettive degli SGLT2i ed evidenzieranno la superiorità del TCPSM con calibro rispetto al PSM nell'includere nell'analisi i numerosi soggetti che apportano modifiche al proprio piano terapeutico. Il quinto (e ultimo) capitolo sarà dedicato alle conclusioni e alla delineazione dei possibili sviluppi futuri.

Capitolo 2

Le tecniche di matching basate sul calcolo dei propensity score

2.1 Descrizione teorica della conduzione di uno studio retrospettivo osservazionale tramite PSM

L'obiettivo degli RWS in ambito farmacoepidemiologico è quello di stabilire una relazione tra la sottoposizione ad un determinato farmaco e un particolare evento clinico avverso. Negli RCT, studi dal carattere prospettico, questo fine è raggiunto per mezzo di un design randomizzato, in cui i pazienti vengono assegnati all'uno o all'altro trattamento in modo del tutto casuale. L'idea alla base di questo procedimento è la seguente: per valutare l'effetto netto che il farmaco produce in relazione all'outcome di interesse, è necessario eliminare tutti gli effetti confondenti, primo tra tutti il motivo per cui si è preferito prescrivere ad un paziente un farmaco piuttosto di un altro. Questa esigenza si manifesta anche nell'ambito degli studi retrospettivi, per la conduzione dei quali sono state proposte numerose tecniche di correzione per i confounder per la creazione di coorti di pazienti bilanciate alla baseline.

In questo contesto si inserisce il PSM. Il PSM [26], come anticipato nella sezione 1.3, è una tecnica di correzione per i confounder che mira a creare due coorti di pazienti bilanciate emulando, all'interno di un RWS, il design tipico degli RCT. L'idea è quella di ottenere un sottoinsieme della popolazione originale costruendo coppie di soggetti formate ciascuna da un componente di una coorte e da un componente dell'altra coorte in modo tale che siano pressochè uguali le probabilità a posteriori dei componenti della coppia di essere sottoposti all'uno o all'altro farmaco, date le loro caratteristiche alla baseline.

Formalmente, siano I e J le due coorti di partenza e i e j due soggetti appartenenti, rispettivamente, all'una e all'altra coorte. Siano, inoltre, M_i ed M_j le due variabili aleatorie rappresentative della probabilità che l' i -esimo soggetto e il j -esimo soggetto abbiano iniziato ad assumere lo stesso dei due farmaci, ovvero il farmaco di interesse. Siano, infine, X_i e X_j le covariate alla baseline dei due pazienti i e j . Il PSM considera (i, j) come una coppia se è

soddisfatta la seguente equazione:

$$P(M_i|X_i) \approx P(M_j|X_j) \quad (2.1)$$

che, come anticipato, discende direttamente dall'effetto prodotto dalla randomizzazione negli RCT, secondo cui M_i è indipendente da X_i , M_j è indipendente da X_j e le probabilità di M_i ed M_j si equivalgono tra loro e, in particolare, sono uguali a 0.5.

Di seguito si espone il procedimento di implementazione del PSM per ottenere il massimo numero di coppie senza ripetizioni che rispettino l'equazione (2.1). Inoltre, verrà chiarito qual è il limite di validità del simbolo \approx dell'equazione (2.1) e quali sono i criteri che permettono di sancire la buona riuscita del processo di matching stesso. Si tratta, dunque, di:

1. effettuare una regressione logistica [29] con in ingresso le covariate $X_k \forall k \in I \cup J$ e in uscita i valori osservati $M_k \forall k \in I \cup J$. Le probabilità a posteriori $P(M_k|X_k) \forall k \in I \cup J$ così ottenute sono i cosiddetti propensity score (PS);
2. calcolare la deviazione standard σ dei PS ottenuti al punto precedente;
3. scegliere un calibro ρ rappresentativo della massima frazione di σ che è ritenuta accettabile affinché sussista il \approx dell'equazione (2.1);
4. applicare il metodo k-nearest neighbour senza ripetizioni [29] ai PS, escludendo dal numero delle possibili coppie finali tutte le coppie (i, j) per cui vale $|P(M_i|X_i) - P(M_j|X_j)| > \rho \sigma$;
5. verificare la buona riuscita della procedura di matching confrontando la distribuzione di ciascuna covariata nelle due coorti tramite i test statistici più adatti per ciascuna tipologia di variabili [30] (per esempio, Wilcoxon Mann-Whitney U per le variabili continue e χ^2 per le variabili dicotomiche);
6. dichiarare il successo dell'intera procedura di matching se e solo se nessun test ha rilevato differenze statisticamente significative con livello di significatività al 5% oppure se l'effect size associato alle eventuali differenze statisticamente significative è piccolo (nello specifico, se è rispettata la seguente condizione sulla standardised mean difference SMD [31]: $|SMD| < 0.1$ [32]).

Come appare evidente dalla descrizione del metodo appena fornita, si tratta di un processo di matching semi-automatico, in cui l'unico grado di libertà è rappresentato dal parametro ρ . Valori più piccoli di ρ impongono un'interpretazione più rigida del significato del simbolo \approx dell'equazione (2.1), conducendo ad una diminuzione importante del sample size, dal momento che molte coppie vengono decretate incandidabili al match a causa della differenza inaccettabile tra i loro PS; viceversa, valori di ρ più grandi conducono ad un match meno rigido, con conseguente aumento del sample size.

2.1. Descrizione teorica della conduzione di uno studio retrospettivo osservazionale tramite PSM

Una volta effettuato il PSM e ottenute le due coorti di pazienti bilanciate alla baseline, è necessario avvalersi degli strumenti metodologici più adatti per analizzare la relazione che intercorre tra l'esposizione a un determinato trattamento e l'outcome clinico di interesse. È fatto frequente che, in ambito farmacoepidemiologico, l'outcome sia di tipo time-to-event: si tratta di una coppia di valori (Δ, T) , dove Δ è un indicatore binario dell'avvenuto o meno accadimento dell'evento avverso di interesse, mentre T è il tempo intercorso tra l'ingresso nello studio e il momento di accadimento dell'evento stesso. A conseguenza di quanto appena detto, è usuale l'applicazione di tecniche di survival analysis per il raggiungimento dello scopo prefissato; tra queste, la più comunemente utilizzata è rappresentata dal modello del rischio proporzionale di Cox [33, 34]. Si tratta di una tecnica statistica che, nel contesto generale multivariato, permette il calcolo della stima dell'effetto netto del trattamento sulla sopravvivenza, dopo aver effettuato una correzione per gli effetti confondenti. Tuttavia, nello specifico caso in questione non è necessario operare in un contesto multivariato, dal momento che, a valle della procedura di matching, si sono ottenute due coorti di pazienti bilanciate alla baseline, avendo provveduto alla correzione per i confounder. Pertanto, è sufficiente performare una regressione di Cox con un unico input, ovvero l'identificatore del trattamento assunto da ciascun paziente, a cui ci si è precedentemente riferiti con il simbolo M_k . Ciò che si ottiene in output è, dunque, il singolo hazard ratio (HR) associato al trattamento: si tratta di una stima del cambiamento atteso del rischio in corrispondenza della presenza (contro l'assenza) del trattamento stesso. Valori di $HR > 1$ indicano che c'è una prognosi di evento avverso peggiore per coloro che assumono il farmaco sotto analisi; viceversa, valori di $HR < 1$ sono rappresentativi di un effetto protettivo del trattamento oggetto dello studio nei confronti del particolare evento clinico avverso considerato.

È molto importante sottolineare che il modello di Cox applicato in successione al PSM negli RWS permette di stimare, tramite l'HR associato al trattamento, solamente l'effetto medio del trattamento sui trattati (ATT, average treatment effect in the treated) e non il più ampio effetto medio del trattamento sull'intera popolazione (ATE, average treatment effect). Si faccia attenzione a quanto segue per capire meglio la differenza tra i due indicatori ATT e ATE. Siano: Y l'outcome di interesse, D il trattamento oggetto di studio, Y^1 la variabile aleatoria a livello di popolazione per l'outcome Y nello stato di trattamento, Y^0 la variabile aleatoria a livello di popolazione per l'outcome Y nello stato di controllo, δ l'effetto causale del trattamento a livello individuale, π la proporzione di popolazione che assume il farmaco D . Fatte queste assunzioni, si può procedere con la definizione di ATT e ATE [35]. L'ATT è definito come l'effetto causale atteso del trattamento D per gli individui appartenenti alla coorte dei trattati con il farmaco D :

$$E[\delta|D = 1] = E[Y^1 - Y^0|D = 1] = E[Y^1|D = 1] - E[Y^0|D = 1] \quad (2.2)$$

Similmente, l'ATE è definito come l'effetto causale atteso del trattamento D su tutti gli individui della popolazione:

$$E[\delta] = \{\pi E[Y^1|D = 1] + (1 - \pi)E[Y^1|D = 0]\} - \{\pi E[Y^0|D = 1] + (1 - \pi)E[Y^0|D = 0]\} \quad (2.3)$$

Negli RCT, l'ATT e l'ATE si equivalgono dal momento che sussistono le seguenti uguaglianze:

$$E[Y^0|D = 1] = E[Y^0|D = 0] \quad (2.4)$$

$$E[Y^1|D = 1] = E[Y^1|D = 0] \quad (2.5)$$

In particolare, l'espressione (2.4) sta a simboleggiare che i soggetti trattati, se non fossero trattati, verserebbero nelle stesse cattive condizioni di salute che sperimentano coloro che appartengono al gruppo di controllo; l'espressione (2.5), invece, è indice del fatto che i soggetti appartenenti al gruppo di controllo, se fossero trattati, migliorerebbero le proprie condizioni di salute tanto quanto i soggetti che sono realmente trattati. Queste due ipotesi, tuttavia, non sono verificate nella popolazione pre-matching degli RWS. Pertanto, l'ATT e l'ATE non sono equivalenti negli RWS e, applicando la regressione di Cox alla popolazione post-matching, è possibile effettuare una stima del solo ATT.

2.1.1 Studio di simulazione nel caso statico

Per capire meglio il funzionamento del PSM, di cui si sono appena forniti i dettagli teorici, e valutare la solidità ed efficacia del metodo stesso, si è deciso di proporre un framework di simulazione per la conduzione degli RWS con outcome di tipo time-to-event.

La prima fase della simulazione in silico in oggetto prevede il processo di generazione dei dati, condotto sulla falsariga di quanto proposto da Austin et al. [36], che si espleta negli step di seguito elencati:

1. creazione delle covariate alla baseline, tra loro indipendenti, di tre tipi: continue (estratte da una distribuzione gaussiana standard), binarie con probabilità 0.5 (a simulare, ad es., il sesso), binarie con probabilità 0.1 (simboleggianti, ad es., l'incidenza di una data comorbidità). Di queste covariate, alcune influenzano il processo di selezione del trattamento cui un soggetto è sottoposto, altre l'outcome, altre ancora entrambi i precedenti aspetti. In aggiunta, l'intensità dell'influenza sulla selezione del trattamento o sull'outcome può essere di due tipologie: debole (con fattore pari a $\ln(1.25)$) o forte (con fattore pari a $\ln(2)$);
2. calcolo della probabilità p_i di ogni soggetto i di essere assegnato all'uno o all'altro trattamento tramite una regressione logistica [29] con le covariate come regressori. L'intercetta del modello è calcolata iterativamente, tramite l'algoritmo di bisezione [37], in modo tale che la percentuale dei soggetti trattati rispetto a quelli sottoposti a controllo sia pari a un valore dato;
3. generazione dello stato trattato o controllo per ogni soggetto tramite una variabile aleatoria con distribuzione di Bernoulli con probabilità restituita dal modello di regressione logistica di cui al punto precedente: $Z_i \sim Be(p_i)$;
4. generazione dell'outcome di tipo tempo all'evento per ogni soggetto tramite un modello di tipo survival, come suggerito da Bender et al. [38]. Nello specifico, si è usata la for-

2.1. Descrizione teorica della conduzione di uno studio retrospettivo osservazionale tramite PSM

mula esponenziale $\frac{-\ln(u_i)}{\lambda e^{LP_i}}$, con λ pari a 1, u_i numero casuale estratto dalla distribuzione uniforme standard ed $LP_i = \beta_{\text{trattamento}} Z_i + \alpha^T X_i$, dove $\beta_{\text{trattamento}}$ è il valore del $\ln(HR)$ associato al trattamento (supposto pari a -3, ad indicare un effetto protettivo del trattamento sull'outcome), X_i sono le covariate dell' i -esimo soggetto e α è il vettore contenente i $\ln(HR)$ associati alle covariate (valevoli $\ln(1.25)$ o $\ln(2)$ a seconda dell'intensità dell'interazione tra la specifica covariata e l'outcome, come visto nel punto 1 del presente elenco, e, in quanto positivi, esprimendo un effetto di rischio delle covariate nei confronti dell'outcome);

5. generazione dei tempi di censura per una data percentuale di soggetti tramite modello uniforme. Con censura (propriamente, censura a destra) s'intende l'azione di fermare l'osservazione di un soggetto prima dell'occorrenza dell'outcome di interesse. Pertanto, dopo l'introduzione della censura, ci si ritrova nella situazione in cui o un evento è accaduto e si conosce il tempo di avvenimento dell'evento stesso, oppure l'evento non è accaduto e si tiene traccia dell'ultimo istante in cui il soggetto è stato osservato;
6. calcolo dell'ATT simulato. Per fare ciò, per i soggetti trattati si generano due tempi all'evento (sempre tramite il modello di sopravvivenza descritto al punto 4 del presente elenco): uno assumendo che il soggetto sia trattato con il farmaco di interesse, l'altro assumendo che il soggetto sia sottoposto a controllo. Usando entrambi i potenziali tempi all'evento così generati, si stima un modello di Cox univariato (con come unico input la variabile che denota se il soggetto è stato sottoposto al trattamento o al controllo); il coefficiente restituito da tale modello è l'ATT desiderato;
7. verifica del fatto che l'ATT calcolato al punto precedente sia sufficientemente grande, in modulo, da essere significativo in relazione a ogni sample size considerato. Per fare ciò, ci si è avvalsi della formula seguente [39]:

$$\ln(ATT)^2 = \frac{(z_{1-\alpha} + z_{1-\beta})^2}{\sigma^2 n p_E (1 - R^2)} \quad (2.6)$$

dove $\alpha = 0.05$ è il livello di significatività del test statistico (ovvero la probabilità d'errore di tipo 1), $\beta = 0.1$ è la probabilità d'errore di tipo 2 (e dunque $1 - \beta$ è la potenza del test statistico), $z_{1-\alpha}$ e $z_{1-\beta}$ sono, rispettivamente, l' $1 - \alpha$ -esimo percentile e l' $1 - \beta$ -esimo percentile della gaussiana standard, σ^2 è la varianza della variabile in questione, n è il numero di soggetti (quindi corrisponde al sample size), p_E è la probabilità d'evento, R^2 è il coefficiente di determinazione (che esprime quanta della varianza della variabile in questione può essere spiegata dalla regressione lineare della variabile stessa su tutte le altre).

Alla fase di generazione dei dati segue l'applicazione del PSM. Per il calcolo dei PS si sono considerate tutte le covariate generate al punto 1 dell'elenco soprastante. Inoltre, si è sfruttato il metodo di bisezione per la scelta del valore da assegnare al calibro ρ ; in particolare, si è cercato il massimo calibro in grado di garantire la correttezza della procedura di matching (in base ai

criteri esposti nel punto 6 dell'elenco puntato della sezione 2.1) e l'accoppiamento di tutti i soggetti appartenenti alla coorte dei trattati, facendo variare il parametro ρ nel range 0-1.5. Per il calcolo della SMD della generica covariata X_i , sia nella situazione pre-matching, sia in quella post-matching, si è considerata la seguente formula:

$$SMD = \frac{\mu_{X_i \text{trattati}} - \mu_{X_i \text{controllo}}}{\sqrt{\frac{(n_{\text{trattati}}-1)\sigma_{X_i \text{trattati}}^2 + (n_{\text{controllo}}-1)\sigma_{X_i \text{controllo}}^2}{n_{\text{trattati}}+n_{\text{controllo}}-2}}} \quad (2.7)$$

dove $\mu_{X_i \text{trattati}}$ è la media della covariata X_i nei soggetti trattati, $\mu_{X_i \text{controllo}}$ è la media della covariata X_i nei soggetti sottoposti a controllo, n_{trattati} e $n_{\text{controllo}}$ sono, rispettivamente, la numerosità del gruppo dei trattati e del gruppo dei soggetti sottoposti a controllo, mentre $\sigma_{X_i \text{trattati}}^2$ e $\sigma_{X_i \text{controllo}}^2$ sono, rispettivamente, le varianze della variabile X_i nei soggetti trattati e in quelli sottoposti a controllo.

La terza (e ultima) fase è costituita dall'applicazione della regressione di Cox sulla variabile che denota lo stato di trattato o di controllo per la stima dell'ATT. Idealmente, se la tecnica di matching fosse efficace e se tutta la pipeline di simulazione funzionasse come da modalità attese, ci si aspetterebbe di ritrovare, alla fine di questa terza fase, che il valore dell'ATT stimato sia quasi sempre compreso negli intervalli di confidenza al 95% dell'ATT simulato nel punto 6 dell'elenco di sopra.

Al fine di valutare le prestazioni dell'intera procedura appena descritta in contesti sperimentali differenti, si è deciso di ripetere la pipeline completa di simulazione al variare di alcuni iperparametri. Tali iperparametri, di cui si sono considerate tutte le possibili diverse combinazioni, sono:

- sample size totale; in particolare, per questo parametro si sono considerati i seguenti valori, che riflettono l'andamento di una progressione geometrica: 2000, 5000, 10000;
- percentuale dei soggetti trattati; in questo caso, i valori considerati sono: 10%, 20%, 30%;
- percentuale degli eventi di interesse, con valori pari a 100%, 90%, 70%, 50% (e, di conseguenza, percentuale dei soggetti censurati pari a 0%, 10%, 30%, 50%, dato che le due percentuali sono complementari);
- numero di covariate dei diversi tipi (correlate, con diversa intensità, all'assegnazione del trattamento, all'outcome, o ad entrambi i fattori appena menzionati).

I risultati ottenuti dalla simulazione in oggetto saranno presentati nella sezione 4.1.

2.2 Un'estensione al caso dinamico: il TCPSM

Sulla base di quanto evidenziato nella sezione 1.4, il PSM, che pur fornisce dei buoni risultati in contesti statici, non è in grado di gestire la situazione dinamica. Per rispettare, dunque, la reale situazione clinica, caratterizzata dai frequenti cambi di terapia da parte dei pazienti affetti da

diabete di tipo 2 (si tratta, dunque, di un prevalent-new user design), la letteratura ha proposto un metodo alternativo al PSM tradizionale statico: il TCPSM [28].

Il TCPSM è una tecnica di correzione per i confounder che, analogamente alla tradizionale tecnica statica, si propone di creare due coorti di pazienti bilanciate alla baseline nell'ambito dell'analisi degli RWS. L'idea di base, dunque, è simile a quella del metodo tradizionale, esposta dettagliatamente nella sezione 2.1; tuttavia, per poter gestire il particolare contesto dinamico, in questo caso i PS sono tempo-varianti, ovvero sono calcolati a partire dalle covariate tempo-varianti dei soggetti nel momento in cui uno di essi inizia ad assumere il farmaco di interesse.

È necessario mettere in luce che, nella procedura di conduzione degli RWS descritta per intero nella sezione 2.1, per applicare il TCPSM in luogo del PSM è d'obbligo, preventivamente, apportare delle modifiche al database in ingresso e alla procedura di matching stessa. La parte di procedimento successiva al matching rimane, invece, immutata. Si forniscono, di seguito, le note implementative step-by-step del metodo TCPSM, inclusi i passi comuni al metodo statico, che chiariscono anche la questione relativa alla struttura del database di cui sopra:

1. formazione della coorte di base, comprendente tutti gli utilizzatori del farmaco di interesse e tutti gli utilizzatori del controllo, con tempo di ingresso nello studio pari alla prima prescrizione del relativo farmaco. La coorte di base comprende, dunque, tutti i soggetti sottoposti a controllo che continuano la medesima terapia, tutti i soggetti che iniziano ad assumere il farmaco di interesse, così come tutti coloro che hanno terminato l'assunzione del controllo in favore del farmaco di interesse;
2. creazione dei time-based exposure set. Si tratta, per ogni nuovo utilizzatore del farmaco di interesse, di identificare, all'interno della coorte di base, tutti quei pazienti che, nell'intervallo temporale di $\pm\delta$ giorni rispetto al tempo in cui avviene il cambio di terapia per il nuovo utilizzatore del farmaco di interesse (dove δ è un parametro scelto dall'utente), hanno una prescrizione del farmaco assunto come controllo;
3. utilizzando i dati di tutti gli exposure set, applicazione della regressione logistica condizionale stratificata per exposure set [40, 41], con in ingresso le covariate tempo-varianti dei pazienti e in uscita la variabile indicativa dello stato di controllo o trattato. I risultati ottenuti al termine di questo processo sono i time-conditional propensity score (TCPS);
4. per rispettare il vincolo di positività, verifica del fatto che, all'interno di ogni exposure set, il TCPS del soggetto trattato con il farmaco di interesse sia compreso nel range in cui cadono i TCPS dei soggetti che popolano il corrispondente exposure set. Se tale vincolo non è rispettato, si procede con l'eliminazione dell'intero exposure set;
5. creazione delle coppie (*trattato, controllo*). Nello specifico, partendo con il primo soggetto sottoposto al farmaco sotto analisi e procedendo in ordine cronologico, si seleziona, tramite k-nearest neighbour senza ripetizioni [29] applicato ai TCPS calcolati al punto 3, il soggetto del corrispondente exposure set che presenta il più simile TCPS. I soggetti sottoposti a controllo che risultano, di volta in volta, accoppiati ad un soggetto trattato devono essere eliminati dai successivi exposure set;

6. analogamente al metodo statico, verifica della correttezza del match tramite confronto della distribuzione di ciascuna covariata nelle due coorti, sfruttando i più appropriati test statistici [30] (in particolare, Wilcoxon Mann-Whitney U per le variabili continue e χ^2 per quelle binarie);
7. in modo identico al metodo statico, dichiarazione della buona riuscita dell'intera procedura di matching se e solo se nessun test statistico performato al punto precedente è stato in grado di rilevare differenze statisticamente significative con livello di significatività al 5% oppure se l'effect size associato alle eventuali differenze statisticamente significative rimaste è piccolo (cioè se vale: $|SMD| < 0.1$ [32]).

È interessante notare che il metodo TCPSM proposto da Suissa et al. [28], di cui si sono appena esposti i passaggi implementativi, prevede come unico grado di libertà il parametro δ , che rappresenta la semi-ampiezza della finestra temporale considerata per creare gli exposure set in corrispondenza di ogni switcher; valori di δ più piccoli conducono ad exposure set meno popolati ma, teoricamente, più omogenei. Tuttavia, se si indica con t_0 il tempo di ingresso nello studio (che corrisponde all'istante di prima prescrizione dell'uno o dell'altro farmaco), è fatto evidente che il parametro δ può avere efficacia solo sugli exposure set situati a tempi $t > t_0$ (ovvero quelli costruiti in corrispondenza degli switcher), mentre è impotente per tutti gli exposure set al tempo t_0 (ovvero quelli costruiti in corrispondenza dei nuovi iniziatori del farmaco di interesse).

Per risolvere questo empasse, nel presente elaborato si è proposta una miglioria al metodo sopra descritto, consistente nell'introduzione di un calibro. Tale calibro assume lo stesso significato del parametro ρ del metodo statico, di cui si sono esposti i dettagli nella sezione 2.1. Il processo descritto nell'elenco numerato della presente sezione va, pertanto, modificato come segue. Dopo il punto 4 è necessario calcolare la deviazione standard σ dei TCPS e scegliere il valore da attribuire al calibro ρ . Successivamente, nel punto 5 bisogna escludere dall'eligibilità al match, per ogni exposure set, tutte le coppie di soggetti tali per cui i TCPS dei due componenti la coppia differiscono in modulo per più di $\rho\sigma$.

L'implementazione del metodo dinamico così modificato e la sua applicazione al caso clinico della valutazione dell'effetto degli SGLT2i rispetto ai DPP4i sulla nefropatia diabetica saranno presentate nella sezione 3.3 del prossimo capitolo. I risultati di tale analisi, invece, verranno esposti nella successiva sezione 4.3 del capitolo 4.

Capitolo 3

Il caso di studio: SGLT2 inibitori contro DPP4 inibitori nella nefropatia diabetica

3.1 Struttura del database e definizione degli input e outcome di interesse

Nel presente elaborato si è condotto, con entrambe le tecniche di matching descritte nel capitolo precedente, uno studio retrospettivo osservazionale multi-centro. In particolare, si è utilizzato un database comprendente i dati di 145198 soggetti trattati in 14 centri di diabetologia della regione Veneto nel periodo compreso tra il 1 gennaio 2010 e il 14 maggio 2019 (con tempo di osservazione mediano pari a 6.6 anni e intervallo interquartile [4.7; 7.8]). In particolare, i 14 centri in questione sono distribuiti sui seguenti territori: Cittadella, Colli Euganei, Conegliano, Noventa Vicentina, Padova, Portogruaro, San Donà di Piave, Treviso, Verona e Vicenza. Il database in questione contiene, per ogni soggetto, un numero di visite di controllo a cadenza irregolare (mediamente, annuale), riportanti informazioni relative alle caratteristiche demografiche e antropometriche, così come gli esiti degli esami di laboratorio, il piano terapeutico e le comorbidità.

Tra le variabili appena menzionate, nella tabella 3.1 figurano quelle che si è deciso di assumere come input di entrambe le tecniche di matching (e che vengono, quindi, utilizzate come regressori nella regressione logistica del caso statico e nella regressione logistica condizionale del caso dinamico per il calcolo, rispettivamente, dei PS e dei TCPS).

Tabella 3.1: Covariate in input ai metodi di matching.

Categorie	Covariate
Generalità	Età, anni
	Sesso
	Durata del diabete, anni
Fattori di rischio	Peso, kg
	Indice di massa corporea, kg/m ²
	Pressione sistolica, mmHg
	Pressione diastolica, mmHg
	Classi di farmaci ipoglicemizzanti (GLM) usati in precedenza, numero
	Tempo trascorso tra l'ingresso nel database e l'index date, giorni
Esami di laboratorio	Glicemia a digiuno, mg/dL
	Emoglobina glicata, %
	Colesterolo, mg/dL
	Colesterolo HDL, mg/dL
	Trigliceridi, mg/dL
	Colesterolo LDL, mg/dL
	Tasso di filtrazione glomerulare stimato (eGFR), mL/min/1.73 m ²
	Velocità di escrezione dell'albumina, mg/24h
Comorbilità	Malattia renale cronica
	Nefropatia
	Retinopatia
	Neuropatia
	Edema maculare diabetico
	Aterosclerosi carotidea
	Rivascolarizzazione carotidea
	Attacco ischemico transitorio o ictus
	Infarto miocardico
	Rivascolarizzazione coronarica
	Cardiopatia coronarica
	Scompenso cardiaco
	Ipertrofia ventricolare sinistra
	Arteriopatia periferica
	Rivascolarizzazione arti inferiori
	Microangiopatia
Macroangiopatia	
Malattia cardiovascolare	

Continua nella pagina seguente

Categorie	Covariate
Terapia diabetica	Insulina lenta
	Metformina
	Sulfaniluree
	Pioglitazone
	Agonisti del recettore di glucagon-like peptide 1 (GLP-1RA)
	Acarbosio
Altra terapia	ACE inibitori
	Diuretici
	Beta bloccanti
	Altri antipertensivi
	Calcio antagonisti
	Statine
	Omega3 o fibrati
	PCSK9 inibitori
	Ezetimibe
	Antiaggreganti
	Anticoagulanti

Il numero di classi di farmaci ipoglicemizzanti (GLM, glucose lowering medications) di cui ciascun soggetto ha fatto uso nell'intera storia clinica precedente la data di ingresso nello studio (index date) è stato incluso come variabile considerata per il calcolo dei PS e dei TCPS a indice dello stadio di evoluzione della malattia diabetica. Per fare in modo che tale dato fosse significativo, anche il tempo trascorso tra l'ingresso nel database e l'index date (corrispondente, dunque, al periodo di cui ci si è serviti per calcolare il numero di diversi GLM assunti da ciascuno) è stato considerato come variabile in input ai metodi di matching. Inoltre, il calcolo dell'eGFR è stato effettuato servendosi dell'equazione CKD-EPI [42] a partire dalle informazioni relative al sesso, al valore di creatinina e all'età. In particolare, le formule utilizzate sono le seguenti:

$$eGFR = \begin{cases} 144 \left(\frac{creatinina}{0.7} \right)^{-0.329} 0.993^{età} & \text{per donne con creatinina} \leq 0.7 \text{ mg/dL} \\ 144 \left(\frac{creatinina}{0.7} \right)^{-1.209} 0.993^{età} & \text{per donne con creatinina} > 0.7 \text{ mg/dL} \\ 141 \left(\frac{creatinina}{0.9} \right)^{-0.411} 0.993^{età} & \text{per uomini con creatinina} \leq 0.9 \text{ mg/dL} \\ 141 \left(\frac{creatinina}{0.9} \right)^{-1.209} 0.993^{età} & \text{per uomini con creatinina} > 0.9 \text{ mg/dL} \end{cases} \quad (3.1)$$

Per il calcolo della frazione LDL del colesterolo ci si è serviti, invece, della formula di Friedewald [43]:

$$colesterolo \text{ LDL} = colesterolo \text{ totale} - colesterolo \text{ HDL} - \frac{trigliceridi}{5} \quad (3.2)$$

Venendo, invece, alla definizione dell'output di interesse, è bene ricordare che lo scopo di

entrambi gli studi retrospettivi osservazionali in oggetto è quello di comparare l'effetto degli SGLT2i (trattamento di interesse) e dei DPP4i (trattamento assunto come controllo) sullo sviluppo e sull'evoluzione della malattia renale diabetica che, come evidenziato nella sezione 1.1, è una tra le più allarmanti complicanze causate dal diabete di tipo 2. A tal fine, sulla base di quanto suggerito da Fadini et al. [13], si è deciso di considerare come outcome di interesse la slope annualizzata dell'eGFR. Sebbene nella sezione 2.1 sia stato detto che, solitamente, l'outcome degli RWS è di tipo time-to-event, la slope annualizzata dell'eGFR non è un dato di tale tipo. Si tratta, piuttosto, di un dato di tipo aggregato lungo l'asse temporale. Difatti, la pendenza annualizzata della curva di decadimento dell'eGFR è stata calcolata, per ogni soggetto, mediante l'applicazione di una regressione lineare con in output i valori di eGFR e in input i tempi in anni trascorsi dall'index date alla registrazione di tali valori di eGFR. La scelta di tale tipologia di outcome è stata guidata, anche, dai risultati ottenuti dallo studio in simulazione statico: come si avrà modo di approfondire nella sezione 4.1, è emerso che i dati di tipo time-to-event ad alta percentuale di censura destra non consentono una stima corretta dell'ATT. Di conseguenza, si è scelto di considerare come outcome un dato di tipo aggregato lungo il tempo, che sia meno sensibile a questo indesiderato effetto. È fatto evidente che dalla modifica della tipologia di outcome discende il cambiamento della tecnica statistica utilizzata per stimare l'effetto netto del trattamento sull'outcome di interesse. In tale contesto, dunque, invece dell'applicazione del modello di Cox per la stima dell'ATT, si è inteso come analisi primaria il confronto della slope annualizzata dell'eGFR nelle due sotto-coorti post-match, avvenuto tramite il test statistico Wilcoxon Mann-Whitney U.

Per quanto concerne, invece, la gestione dei missing data, si è proceduto, in entrambi i casi, come segue:

- per le variabili appartenenti alle categorie comorbilità, terapia diabetica e altra terapia si è fatta un'imputazione semplice sulla moda;
- per le variabili appartenenti a tutte le rimanenti categorie si sono integrati i dati mancanti con quelli disponibili in occasione della visita immediatamente precedente; laddove anche tale visita fosse sprovvista dei dati necessari, si è provveduto all'eliminazione del record in oggetto.

Chiaramente, dai processi di imputazione si è esclusa la variabile eGFR, necessaria per il calcolo dell'outcome clinico di interesse.

3.2 Il caso reale statico

In prima battuta, per valutare l'efficacia comparativa dei farmaci appartenenti alle classi degli SGLT2i e dei DPP4i sulla nefropatia diabetica in uno scenario farmacoepidemiologico reale, si è condotto un RWS sul database multi-centro descritto nella sezione precedente tramite PSM. Tale studio è stato concepito come integrazione di un RWS preesistente [18], in cui si è posto l'accento sugli effetti benefici degli SGLT2i nella riduzione del livello di emoglobina glicata, del peso corporeo e della pressione sanguigna.

Per l'identificazione della coorte si sono considerati i seguenti criteri di inclusione, con lo scopo di evitare, tra le altre, una problematica tipica degli RWS in ambito farmacoepidemiologico, ovvero l'immortal time bias [44]:

- nuovi iniziatori di una sola delle due classi di trattamento (SGLT2i e DPP4i) dal 1 gennaio 2014 (data di prima approvazione per l'ingresso nel mercato degli SGLT2i) in poi. In particolare, tra gli SGLT2i si sono considerati i farmaci dapagliflozin, canagliflozin ed empagliflozin (cui corrispondono, rispettivamente, i codici ATC A10BK01, A10BK02, A10BK03), mentre tra i DPP4i i farmaci inclusi nell'analisi sono sitagliptin, vildagliptin, saxagliptin, alogliptin, linagliptin (cui corrispondono, rispettivamente, i codici ATC A10BH01, A10BH02, A10BH03, A10BH04, A10BH05). Si è definita come index date la data di prima prescrizione di uno di tali farmaci;
- età superiore ai 18 anni;
- assenza di una prescrizione di insulina rapida contemporanea alla prima prescrizione di un farmaco appartenente a una delle due classi di GLM in questione. Il rationale alla base di questa scelta è il fatto che la combinazione di insulina rapida e DPP4i non era rimborsabile da parte del Sistema Sanitario Nazionale negli anni in esame; di conseguenza, non considerare questo criterio di inclusione implicherebbe una stima falsata dell'effetto netto del trattamento in questione, dal momento che tutti i pazienti che assumono insulina rapida (che sono, tipicamente, i più gravi) andrebbero a confluire nella coorte dei trattati con SGLT2i;
- presenza di almeno una classe di GLM non insulinici nel periodo antecedente l'index date. Infatti, sia gli SGLT2i che i DPP4i sono farmaci di seconda linea;
- presenza del valore di eGFR all'index date;
- disponibilità di almeno una visita di follow-up valida (cioè con valore di eGFR noto), per calcolare la slope annualizzata dell'eGFR.

Dopo aver definito la coorte di partenza con i criteri appena menzionati, la distribuzione dei missing value nel database pre-processato seguiva l'andamento rappresentato nella tabella 3.2. Pertanto, si è ritenuto opportuno procedere con la gestione dei missing data, seguendo quanto descritto nella sezione 3.1 (ultimo paragrafo).

In coda a questa procedura si è, dunque, ottenuta la coorte di pazienti alla baseline. Si è fornita una panoramica descrittiva della distribuzione delle covariate alla baseline nelle due coorti di pazienti (tramite media e deviazione standard per le variabili continue, frequenza e percentuale per quelle binarie), affiancata dal confronto delle covariate stesse nei due gruppi mediante test statistici (Wilcoxon Mann-Whitney U per variabili continue e χ^2 per variabili binarie) e calcolo della SMD (tramite le formula (2.7)).

Successivamente, sul database così ottenuto è stato implementato il PSM, seguendo il processo teorico descritto nella sezione 2.1. Le variabili riportate nella tabella 3.1 sono state assunte

Tabella 3.2: Distribuzione dei missing data nel database statico pre-processato.

Covariate	Percentuali di missing data
Età	0%
Sesso	0%
Durata del diabete	0%
Peso	2.81%
Indice di massa corporea	3.36%
Pressione sistolica	3.83%
Pressione diastolica	3.75%
Glicemia a digiuno	10.39%
Emoglobina glicata	2.11%
Colesterolo	12.42%
Colesterolo HDL	13.91%
Trigliceridi	13.52%
Colesterolo LDL	15.78%
Velocità di escrezione dell'albumina	19.06%

come input della regressione logistica al fine del calcolo dei PS; la procedura di matching 1:1 è stata poi condotta tramite il classificatore k-nearest neighbour senza ripetizioni e con calibro ρ pari a 0.1. Si è visto, infatti, che tale calibro è in grado, contemporaneamente, di garantire la correttezza del match (secondo i criteri descritti nei punti 5 e 6 dell'elenco puntato della sezione 2.1) e di fornire un numero consistente di soggetti accoppiati.

Una volta effettuato il matching, si è pronti per stimare l'effetto netto del trattamento con gli SGLT2i rispetto a quello con i DPP4i sull'evoluzione della malattia renale diabetica. Come già anticipato nella sezione precedente, si è assunto come outcome di interesse la slope annualizzata dell'eGFR. Per la definizione di tale outcome è stato adottato l'approccio cosiddetto intention-to-treat (ITT): si tratta di un design sperimentale che prevede di considerare come periodo di follow-up (ovvero come finestra temporale sulla base della quale calcolare l'outcome di interesse) l'intero orizzonte temporale disponibile nel database post-index date, noncuranti del fatto che i pazienti abbiano continuato o meno ad assumere il farmaco per il quale sono stati inclusi nello studio. Il confronto di tale outcome nelle due sub-coorti post-match è stato effettuato per mezzo del test statistico Wilcoxon Mann-Whitney U. Sono, inoltre, stati calcolati il primo, il secondo e il terzo quartile dell'outcome nei due gruppi. In aggiunta, è stato fatto un test di Wilcoxon a un campione per valutare se le mediane della slope annualizzata di eGFR nei due gruppi fossero, o meno, significativamente diverse da zero.

Per i risultati ottenuti con questa particolare tipologia di studio si faccia riferimento alla sezione 4.2 del capitolo 4.

3.3 Il caso reale dinamico

Secondo quanto messo in luce nella sezione 1.4, il metodo di matching tradizionale statico per la conduzione degli RWS è incapace di cogliere il reale scenario clinico dei pazienti diabetici, che sono soliti effettuare numerosi cambi di terapia. Per sopperire alle mancanze del PSM

giunge in aiuto, allora, il TCPSM. Pertanto, ad estensione e completamento di quanto descritto nella sezione precedente, nel presente elaborato si è deciso di utilizzare la tecnica del TCPSM per la valutazione retrospettiva dell'effetto dei farmaci SGLT2i e DPP4i sulla malattia renale diabetica.

Come detto nella sezione 2.2, l'applicazione del metodo dinamico prevede, come ingresso all'algoritmo di matching stesso, un database strutturato diversamente rispetto al caso statico. Nel caso tradizionale statico, come visto precedentemente, ogni soggetto compare nel database un'unica volta, in corrispondenza della prima prescrizione valida (cioè tale per cui sono soddisfatti tutti i criteri di inclusione elencati nella sezione 3.2) di SGLT2i o DPP4i. Nel contesto dinamico, invece, la situazione è differente; la coorte di partenza comprende, infatti:

- tutti i soggetti che assumono un farmaco appartenente alla classe dei DPP4i e che continuano ad assumere tale farmaco nel tempo, senza avere mai una prescrizione di SGLT2i. Di costoro, nel database in questione saranno presenti i dati relativi a tutte le visite con una prescrizione valida di DPP4i;
- tutti i soggetti che hanno almeno una prescrizione valida di SGLT2i non preceduta da alcuna prescrizione di DPP4i. Di essi, nel database compariranno solo i dati relativi alla prima prescrizione valida di SGLT2i;
- tutti i soggetti per i quali è presente almeno una prescrizione valida di DPP4i precedente ad una prescrizione altrettanto valida di SGLT2i; costoro sono, per l'appunto, i cosiddetti switcher, esclusi dall'analisi nel caso statico. Di quest'ultima categoria di soggetti si considerano, ai fini della costruzione del database, le informazioni relative alla prima visita con prescrizione valida di SGLT2i, nonché i dati di tutte le visite con una prescrizione valida di DPP4i antecedenti.

Tenuti in considerazione questi aspetti, è bene fare chiarezza sul significato del termine "valido", usato più volte nell'elenco soprastante. Nel caso dinamico, infatti, i criteri di inclusione considerati sono i seguenti:

- prescrizioni di SGLT2i o DPP4i dal 1 gennaio 2014 in poi. In particolare, tra gli SGLT2i si sono considerati i farmaci dapagliflozin, canagliflozin ed empagliflozin (cui corrispondono, rispettivamente, i codici ATC A10BK01, A10BK02, A10BK03), mentre tra i DPP4i i farmaci inclusi nell'analisi sono sitagliptin, vildagliptin, saxagliptin, alogliptin, linagliptin (cui corrispondono, rispettivamente, i codici ATC A10BH01, A10BH02, A10BH03, A10BH04, A10BH05);
- età superiore ai 18 anni;
- assenza di una prescrizione di insulina rapida contemporanea ad una qualsiasi prescrizione di SGLT2i o DPP4i;
- assenza di una prescrizione di GLP-1RA contemporanea ad una qualsiasi prescrizione di SGLT2i o DPP4i;

- presenza di almeno una classe di GLM (escluse le insuline) nel periodo che precede la prescrizione di un SGLT2i o un DPP4i. Questo vincolo non si applica nel caso in cui la prescrizione di SGLT2i o DPP4i sia in corrispondenza della prima visita in cui il soggetto compare nel database originario;
- presenza del valore di eGFR ad ogni prescrizione di SGLT2i o DPP4i;
- disponibilità, per ogni visita con prescrizione di SGLT2i o DPP4i, di almeno una visita di follow-up riportante il valore di eGFR.

Come data di ingresso nel database rappresentativo della coorte di base si è considerata, per ogni soggetto, la prima prescrizione valida dell'una o dell'altra categoria di farmaci in oggetto.

Sul database così pre-processato, attestante una distribuzione di missing data come da tabella 3.3, si è provveduto alla gestione dei dati mancanti stessi, sfruttando il procedimento descritto nella sezione 3.1 (ultimo paragrafo). Al termine di questa fase, si è ritenuta formata la coorte di base.

Tabella 3.3: Distribuzione dei missing data nel database dinamico pre-processato.

Covariate	Percentuali di missing data
Età	0%
Sesso	0%
Durata del diabete	0%
Peso	4.72%
Indice di massa corporea	6.33%
Pressione sistolica	6.87%
Pressione diastolica	6.82%
Glicemia a digiuno	12.35%
Emoglobina glicata	4.46%
Colesterolo	14.79%
Colesterolo HDL	16.58%
Trigliceridi	16.44%
Colesterolo LDL	18.71%
Velocità di escrezione dell'albumina	30.71%

Dopo la creazione della coorte di base e prima di proseguire con le successive fasi della procedura implementativa del TCPSM, si sono analizzate le covariate dei pazienti inclusi nella coorte di base stessa. Per le variabili continue si sono usate, come metriche, la media e la deviazione standard, mentre per le variabili dicotomiche la frequenza e la percentuale. Inoltre, il confronto delle covariate alla baseline tra le due coorti di pazienti è stato effettuato mediante test statistici (Wilcoxon Mann-Whitney U per variabili continue e χ^2 per variabili binarie) e calcolo della SMD (tramite le formula (2.7)).

Successivamente, seguendo quanto esposto nella sezione 2.2, si è proceduto con la creazione degli exposure set: per ogni utilizzatore di SGLT2i si sono considerati tutti i soggetti con una prescrizione di DPP4i nell'intervallo temporale, centrato su tale prima prescrizione di SGLT2i, di $\pm \delta$ giorni. Per la semi-ampiezza δ della finestra temporale si è scelto il valore di 90 giorni. Successivamente, si sono calcolati i TCPS per mezzo di una regressione logistica condizionale

stratificata per exposure set con le covariate riportate nella tabella 3.1 come regressori. Dopo aver verificato il soddisfacimento del vincolo di positività di cui al punto 4 dell'elenco puntato della sezione 2.2, per ogni exposure set e aver eventualmente eliminato gli exposure set non consoni, si è proceduto, per ogni exposure set e in ordine cronologico, con il matching 1:1 tramite il classificatore k-nearest neighbour senza ripetizioni, con valore del calibro ρ pari a 0.001. La scelta del calibro è ricaduta su 0.001 in quanto valore in grado di garantire un buon compromesso tra la correttezza della procedura di matching (valutata mediante test statistici e/o calcolo della SMD, come spiegato nei punti 6 e 7 dell'elenco puntato della sezione 2.2) e il numero di coppie restituite dal processo di matching stesso.

Infine, analogamente a quanto fatto nel caso statico, si è condotto il confronto della slope annualizzata di eGFR nelle due sotto-coorti di pazienti post-match tramite il test statistico Wilcoxon Mann-Whitney U, corredato dal calcolo della mediana, del primo e del terzo quartile dell'outcome di interesse stesso nei due gruppi. Inoltre, per verificare la significativa diversità da zero delle mediane della slope annualizzata di eGFR nelle due coorti, si è effettuato un test di Wilcoxon a un campione. Per il raggiungimento di tale obiettivo, anche in questo secondo caso è stato adottato l'approccio ITT, con un'accortezza in più rispetto al caso statico: per gli switcher, infatti, si è fatto terminare il periodo di follow-up relativo al trattamento con DPP4i in corrispondenza della prima prescrizione con SGLT2i.

I risultati dell'intera analisi saranno presentati nella sezione 4.3 del capitolo che segue.

Capitolo 4

Risultati

4.1 La simulazione in silico statica

Nella sezione 2.1.1 è stato proposto un framework di simulazione per l'analisi, tramite PSM, degli RWS con evento di interesse di tipo time-to-event. Come anticipato, lo scopo di tale simulazione consiste nel valutare le prestazioni dell'intera pipeline di conduzione di tali studi al variare di alcuni iperparametri. Da un lato, dunque, è d'interesse la valutazione dell'efficacia della tecnica di matching adoperata; dall'altro lato, invece, risulta importante individuare in quali occasioni e con che frequenza l'intero processo è in grado di condurre ad una stima corretta dell'ATT.

Come già descritto nella sezione 2.1.1 (ultimo paragrafo), gli iperparametri che si è deciso di far variare, con l'intento di rispecchiare ciò che avviene nei contesti reali, sono i seguenti: sample size (ovvero il numero di pazienti inclusi nell'analisi), percentuale di soggetti trattati con il farmaco di interesse, percentuale di incidenza degli eventi di interesse, numero di covariate dei diversi tipi (correlate, a differente grado di intensità, all'assegnazione del trattamento, all'evento di interesse, o ad entrambi questi fattori).

Dopo aver considerato tutte le possibili combinazioni di valori degli iperparametri scelti, che sono risultate in 280 iterazioni del processo completo di simulazione, si sono ottenute le evidenze di seguito descritte.

Nell'80% dei casi il PSM con valore del calibro compreso tra 0 e 1.5 si è rivelato in grado di bilanciare le covariate delle due coorti di pazienti alla baseline, sulla base dei criteri sul p value e sulla SMD descritti nei punti 5 e 6 dell'elenco numerato della sezione 2.1. Risultati abbastanza confortanti derivano anche dall'abilità del metodo in questione di accoppiare la maggior parte dei pazienti trattati con il farmaco di interesse: nel 66% dei casi si è trovato, per il 95% dei soggetti trattati, un soggetto facente capo all'altra coorte con caratteristiche ritenute simili alla baseline; nell'80% dei casi, invece, si è verificato tale accoppiamento per il 90% dei soggetti appartenenti alla coorte dei trattati. Se ne deduce che, in accordo con quanto sostenuto dalla letteratura recente, il PSM, pur con la limitazione di essere applicabile solo a contesti statici, nella maggior parte dei casi è in grado di applicare correttamente la correzione per gli agenti confondenti, permettendo di ottenere due sotto-coorti di pazienti con caratteristiche molto simili

alla baseline.

Un risultato notevole è emerso, invece, in relazione al secondo aspetto sopracitato, ovvero quello relativo al ritrovamento, a valle dell'intero processo, del valore simulato dell'ATT. Dalla presente analisi, condotta in contesto simulato, è risultato che la variazione di alcuni iperparametri non è in grado di influenzare in modo significativo la percentuale di successo dell'intero procedimento (dove con successo s'intende l'abilità di stimare un valore dell'ATT compreso negli intervalli di confidenza al 95% del valore dell'ATT simulato). In particolare, tra questi iperparametri si annoverano il sample size, la percentuale dei soggetti trattati e il numero di variabili dei diversi tipi. Infatti, come si può vedere nella tabella 4.1, a valori anche molto diversi di tali iperparametri corrispondono valori simili di percentuali di successo. Al contrario, la percentuale di incidenza degli eventi di interesse (che è, naturalmente, correlata alla percentuale di soggetti censurati dalla relazione $percentuale_{censurati} = 100\% - percentuale_{eventi}$) si è rivelata essere, in prima approssimazione, la principale causa di fallimento del processo stesso: come si evince dalla tabella 4.1, valori bassi di tale percentuale conducono ad un'altrettanto bassa percentuale di successo della procedura in questione. In particolare, con $percentuale_{eventi} = 50\%$ si giunge a successo nel 4% dei casi, con $percentuale_{eventi} = 70\%$ nel 34% dei casi, con $percentuale_{eventi} = 90\%$ nel 74% dei casi e con $percentuale_{eventi} = 100\%$ nel 91% dei casi. Le implicazioni di questo fatto sono degne di nota: quando l'outcome di interesse è di tipo time-to-event, se la percentuale di censura destra raggiunge livelli medio-alti, il modello di Cox applicato sulla sub-coorte dei soggetti post-match non è in grado di stimare correttamente l'ATT (nonostante ci si sia sincerati che l'ATT stesso sia di entità significativa in relazione a ogni sample size considerato sulla base della formula (2.6) e nonostante il fatto che il processo di matching sia avvenuto correttamente).

Questo risultato, a priori inatteso, supporta, dal punto di vista non solo clinico, ma, anche, metodologico, la scelta della slope annualizzata dell'eGFR come outcome di interesse nei due RWS multi-centro condotti nel presente elaborato, come detto nella sezione 3.1. Infatti, a differenza di un dato di tipo time-to-event, dove la probabilità d'evento avverso è ridotta dalla presenza della censura destra e ulteriori inesattezze sono causate dall'irregolare distribuzione nel tempo delle visite di follow-up dei pazienti, un outcome aggregato lungo l'asse temporale come la slope annualizzata dell'GFR risulta essere più robusto, in quanto meno sensibile a tali problematiche. I risultati ottenuti dai due RWS appena citati saranno esposti nelle successive due sezioni.

Tabella 4.1: Percentuale di successi nella stima dell'effetto medio del trattamento sui trattati al variare del valore degli iperparametri.

Iperparametri	Valori	Percentuali di successo
Sample size	2000	61%
	5000	51%
	10000	40%
Percentuale di soggetti trattati con farmaco di interesse	10%	66%
	20%	42%
	30%	47%
Numero di variabili correlate solo al trattamento	0	51%
	3	69%
	9	51%
	15	31%
Numero di variabili correlate solo all'outcome	6	65%
	18	52%
	30	43%
Numero di variabili fortemente correlate a trattamento ed evento di interesse	1	59%
	6	50%
	9	50%
Numero di variabili debolmente correlate a trattamento ed evento di interesse	1	55%
	6	50%
	9	50%
Percentuale di eventi di interesse	50%	4%
	70%	34%
	90%	74%
	100%	91%

4.2 Il caso reale statico affrontato mediante PSM

La presente sezione si propone di presentare i risultati ottenuti dall'analisi sui dati reali condotta tramite PSM ai fini della valutazione dell'effetto netto del trattamento con gli SGLT2i rispetto a quello con i DPP4i sulla pendenza della curva di decadimento, nel tempo, dell'eGFR. Ci si riferisce, pertanto, al caso reale statico dettagliatamente descritto nella sezione 3.2.

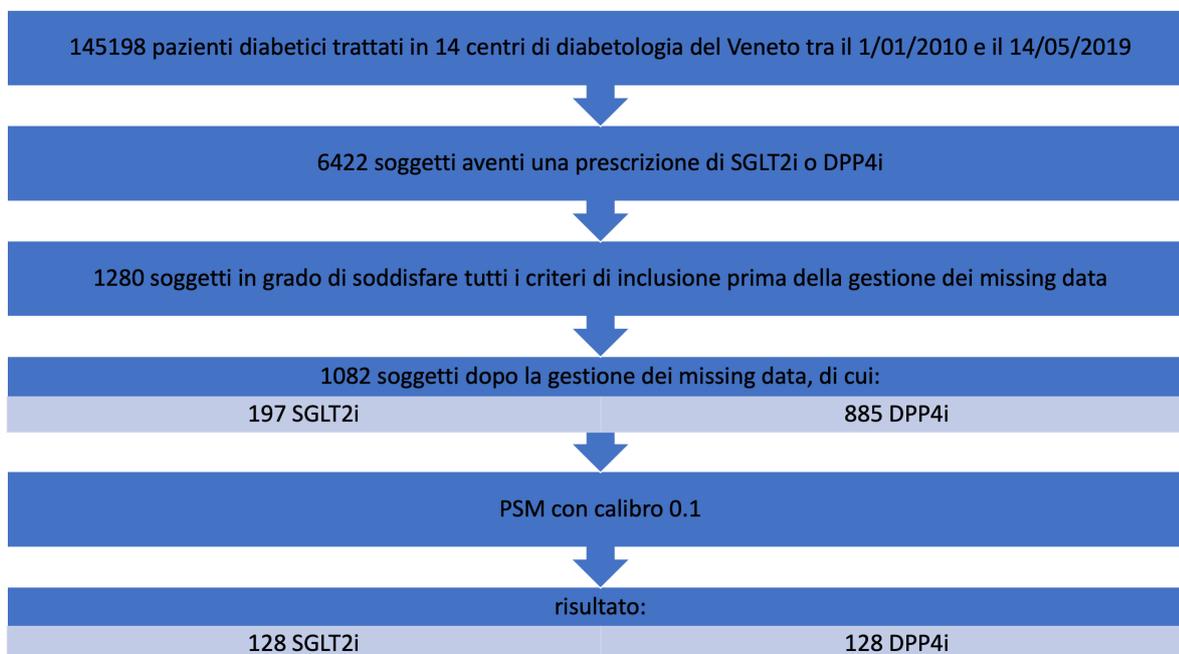


Figura 4.1: Descrizione visiva tramite flowchart del framework generale dello studio condotto tramite propensity score matching.

Abbreviazioni: PSM, propensity score matching; SGLT2i, inibitori del co-trasportatore di sodio-glucosio 2; DPP4i, inibitori della dipeptidil peptidasi-4.

Nella figura 4.1 si propone il flowchart dello studio in oggetto. In particolare, da una popolazione totale di 145198 pazienti diabetici trattati in 14 centri di diabetologia del Veneto nel lasso temporale compreso tra l'1 gennaio 2010 e il 14 maggio 2019, sono stati identificati 6422 soggetti aventi almeno una prescrizione di un farmaco appartenente alle classi SGLT2i o DPP4i. Di questi ultimi, solo 1280 si sono rivelati in grado di soddisfare tutti i criteri di inclusione elencati nell'elenco puntato della sezione 3.2. Dopo il processo di gestione dei missing data, effettuato seguendo le linee guida descritte al termine della sezione 3.1, è stata formata la coorte di base, comprendente 1082 soggetti. Di costoro, 197 sono iniziatori di una terapia con un SGLT2i, mentre 885 sono nuovi utilizzatori di un DPP4i.

Queste due coorti di pazienti mostrano significative differenze in termini di distribuzione delle covariate alla baseline: nella parte sinistra della tabella 4.2, che si riferisce alla situazione pre-matching, sono riportate le medie e le deviazioni standard delle variabili continue, le frequenze e le percentuali delle variabili discrete, così come i p value ottenuti a seguito dell'applicazione dei test statistici (Wilcoxon Mann-Whitney U e χ^2 , rispettivamente) e le SMD. In aggiunta, la figura 4.2 fornisce, a mezzo dei puntini rossi, una visualizzazione grafica dei valori del modulo della SMD delle covariate dei pazienti nella situazione antecedente il matching.

In seguito all'applicazione del PSM con calibro pari a 0.1 sono state ottenute due sotto-coorti di 128 pazienti ognuna, caratterizzate da un buon bilanciamento delle covariate alla baseline. Si faccia, per questo aspetto, riferimento alla parte destra della tabella 4.2, indicativa della situazione post-matching. Anche in questo caso sono presenti le medie e le deviazioni standard delle variabili continue, le frequenze e le percentuali di quelle dicotomiche, i p value ottenuti a seguito dell'applicazione dei test statistici e le SMD. Inoltre, nella figura 4.2 è riportato, graficamente, il modulo della SMD delle covariate dei pazienti prima e dopo il PSM. Come si evince dalla figura in questione, tutte le variabili post-matching risultano avere un valore di SMD, in modulo, inferiore a 0.1, a conferma del buon esito del processo di matching stesso; l'unica eccezione è costituita dalla variabile associata alla neuropatia che, tuttavia, rispetta il requisito di matching soddisfacente basato sul p value, facendo registrare un valore del p value stesso superiore a 0.05. Nelle due sub-coorti ottenute a valle della procedura di matching i farmaci della classe SGLT2i mostrano la seguente distribuzione: 31% dapagliflozin, 24% canagliflozin, 45% empagliflozin. Similmente, i farmaci della classe DPP4i sono distribuiti come segue: 23% sitagliptin, 27% vildagliptin, 2% saxagliptin, 34% alogliptin, 14% linagliptin. Il paziente medio ha 65 anni, una diagnosi di diabete da 12 anni, BMI pari a 31 kg/m² e un valore di HbA1c alla baseline pari a 7.8%. La prevalenza di micro- e macroangiopatia si attesta sui valori 53% e 57%, rispettivamente. Il 90% dei pazienti assume metformina, mentre il 69% di essi è trattato con statine.

Come evidenziato nella sezione 3.1, la slope annualizzata dell'eGFR è stata assunta come outcome di interesse, ad indice dell'evoluzione della nefropatia diabetica. Per la definizione del periodo di follow-up, come spiegato nella sezione 3.2, si è adottato un approccio di tipo ITT, capace di offrire periodi di osservazione più lunghi ma, al contempo, incapace di fornire controllo sulla continuazione, o meno, da parte dei soggetti di una o dell'altra terapia. Mediana, primo e terzo quartile di tale follow-up sono risultati valere, rispettivamente, 714, 373 e 958.5 giorni.

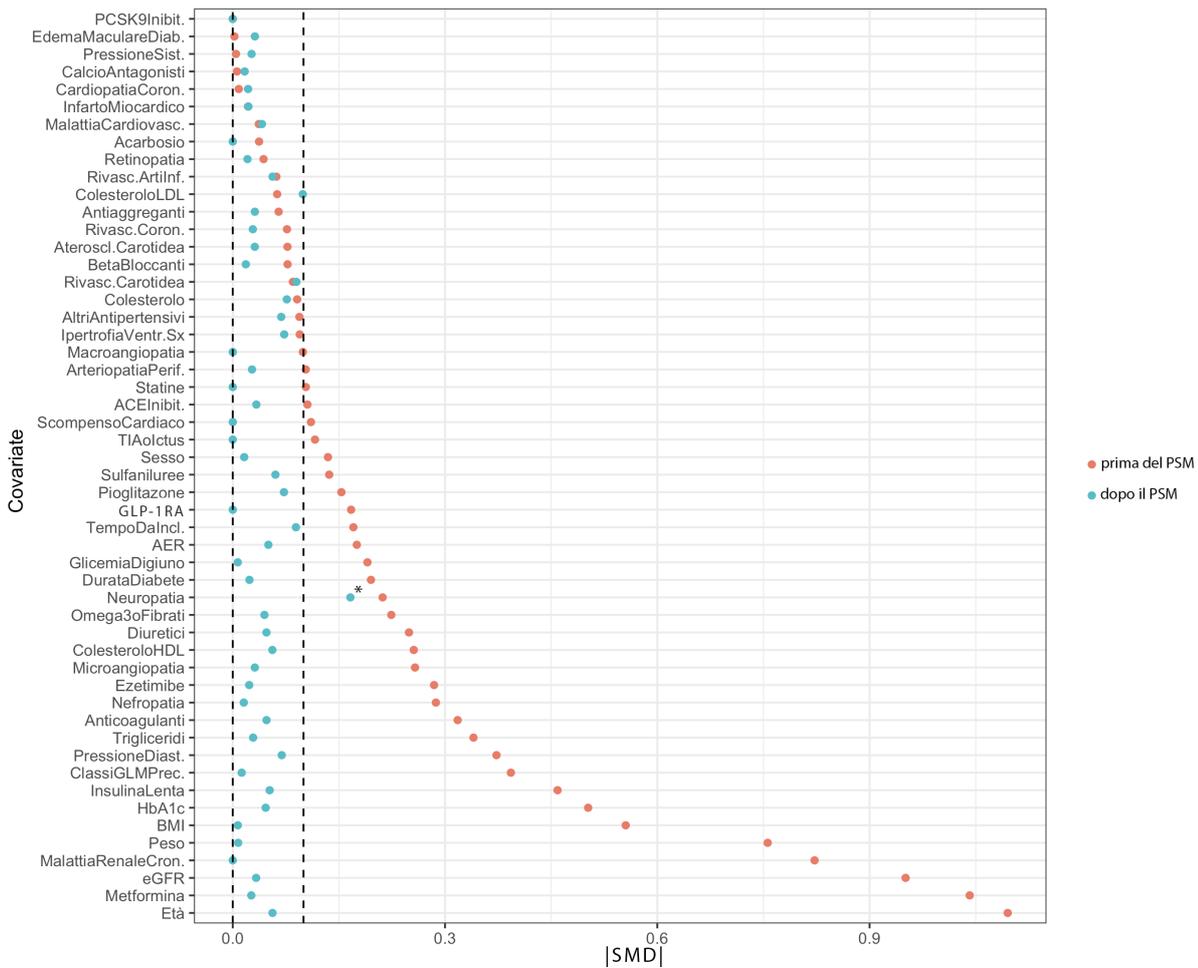


Figura 4.2: Modulo della standardised mean difference delle covariate dei pazienti prima e dopo il propensity score matching.

Note: Le variabili contrassegnate con l'asterisco (*) rispettano comunque il criterio p value > 0.05.

Abbreviazioni: PSM, propensity score matching; SMD, standardised mean difference; BMI, indice di massa corporea; PressioneSist., pressione sistolica; PressioneDiast., pressione diastolica; HbA1c, emoglobina glicata; AER, velocità di escrezione dell'albumina; MalattiaRenaleCron., malattia renale cronica; EdemaMaculareDiab., edema maculare diabetico; TIA, attacco ischemico transitorio; RivascCoron, rivascolarizzazione coronarica; IpertrofiaVentr.Sx, ipertrofia ventricolare sinistra; Rivasc.Artilnf., rivascolarizzazione degli arti inferiori; ArteriopatiaPerif., arteriopatia periferica; Ateroscl.Carotidea, aterosclerosi carotidea; Rivasc.Carotidea, rivascolarizzazione carotidea; CardiopiaCoron., cardiopia coronarica; MalattiaCardiovasc., malattia cardiovascolare; GLP-1RA, agonisti del recettore di glucagon-like peptide 1; ACEInibit., ACE inibitori; PCSK9Inibit., PCSK9 inibitori; ClassiGLMPrec., classi di farmaci ipoglicemizzanti precedenti; TempoDaIncl., tempo trascorso dall'ingresso nel database; eGFR, tasso di filtrazione glomerulare stimato.

La mediana della slope annualizzata dell'eGFR nella sotto-coorte dei trattati con gli SGLT2i è risultata valere -0.92 (IQR [-4.75; 2.13]) mL/min/1.73 m² anno; invece, nella sub-coorte dei trattati con i DPP4i il valore della mediana dello stesso outcome di interesse è -2.35 (con IQR [-5.82; 0.35]) mL/min/1.73 m² anno. In seguito all'applicazione del test statistico Wilcoxon Mann-Whitney U per il confronto della slope annualizzata dell'eGFR nelle due diverse sub-coorti di pazienti, è emersa una differenza statisticamente significativa (p value=0.034) tra le mediane dell'outcome di interesse nei due gruppi. Pertanto, dal presente RWS condotto tramite

PSM è emerso che gli SGLT2i sono associati a un miglior decorso della nefropatia diabetica rispetto ai DPP4i.

Inoltre, a seguito della conduzione del test statistico Wilcoxon a un campione, entrambe le mediane sopra menzionate si sono rivelate essere significativamente minori di 0 (con valori del p value pari a 0.045 nel caso degli SGLT2i e <0.001 per i DPP4i); tale risultato rispecchia la fisiologia, dal momento che, sulla base dell'equazione CKD-EPI per la stima dell'eGFR (riportata nella sezione 3.1 con l'etichetta (3.1)), l'eGFR è supposto diminuire con l'avanzare dell'età.

Per la visualizzazione grafica di tali risultati si faccia riferimento alla figura 4.3.

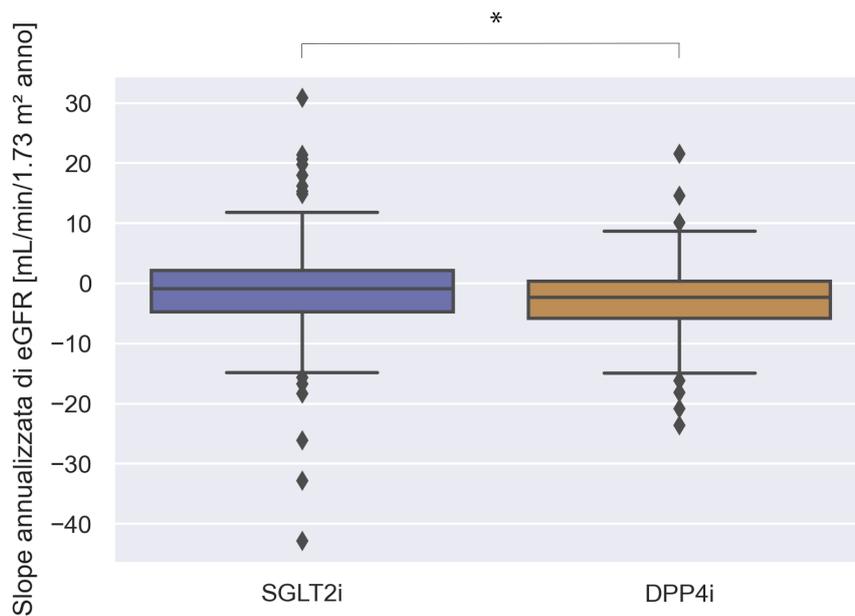


Figura 4.3: Boxplot della slope annualizzata del tasso di filtrazione glomerulare stimato nelle due sub-coorti di pazienti dopo il propensity score matching.

Note: L'asterisco (*) simboleggia una differenza statisticamente significativa tra le mediane della slope annualizzata dell'eGFR nei due gruppi con livello di significatività pari a 0.05.

Abbreviazioni: SGLT2i, inibitori del co-trasportatore di sodio-glucosio 2; DPP4i, inibitori della dipeptidil peptidasi-4; eGFR, tasso di filtrazione glomerulare stimato.

Tabella 4.2: Covariate dei pazienti prima e dopo il propensity score matching.

Abbreviazioni: PSM, propensity score matching; SMD, standardised mean difference; SGLT2i, inibitori del co-trasportatore di sodio-glucosio 2; DPP4i, inibitori della dipeptidil peptidasi-4; BMI, indice di massa corporea; PressioneSist., pressione sistolica; PressioneDiast., pressione diastolica; HbA1c, emoglobina glicata; AER, velocità di escrezione dell'albumina; MalattiaRenaleCron., malattia renale cronica; EdemaMaculareDiab., edema maculare diabetico; TIA, attacco ischemico transitorio; RivascCoron, rivascolarizzazione coronarica; IpertrofiaVentr.Sx, ipertrofia ventricolare sinistra; Rivasc.ArtiInf., rivascolarizzazione degli arti inferiori; ArteriopatiaPerif., arteriopatia periferica; Ateroscl.Carotidea, aterosclerosi carotidea; Rivasc.Carotidea, rivascolarizzazione carotidea; CardiopatiaCoron., cardiopatia coronarica; MalattiaCardiovasc., malattia cardiovascolare; GLP-1RA, agonisti del recettore di glucagon-like peptide 1; ACEInibit., ACE inibitori; PCSK9Inibit., PCSK9 inibitori; ClassiGLMPrec., classi di farmaci ipoglicemizzanti precedenti; TempoDaIncl., tempo trascorso dall'ingresso nel database; eGFR, tasso di filtrazione glomerulare stimato.

	Prima del PSM				Dopo il PSM			
	DPP4i	SGLT2i	pvalue	SMD	DPP4i	SGLT2i	pvalue	SMD
n	885	197			128	128		
Età (media (SD)), anni	73.18 (9.78)	62.77 (8.15)	<0.001	-1.1	65.00 (9.91)	64.51 (7.43)	0.28	-0.06
Sesso m. (n(%))	512 (57.9)	127 (64.5)	0.104	0.13	82 (64.1)	81 (63.3)	0.88	-0.02
DurataDiabete (media (SD)), anni	13.65 (9.12)	11.91 (7.67)	0.013	-0.2	12.48 (8.32)	12.28 (8.23)	1	-0.02
Peso (media (SD)), kg	79.22 (15.27)	91.12 (17.74)	<0.001	0.76	86.99 (17.09)	86.86 (16.48)	0.91	-0.01
BMI (media (SD)), kg/m ²	28.90 (5.04)	31.78 (5.81)	<0.001	0.56	30.66 (5.52)	30.70 (5.65)	0.77	0.01
PressioneSist. (media (SD)), mmHg	139.66 (17.76)	139.58 (19.09)	0.954	0	138.79 (17.46)	138.31 (18.36)	0.7	-0.03
PressioneDiast. (media (SD)), mmHg	77.50 (9.41)	81.04 (9.78)	<0.001	0.37	79.92 (9.45)	79.29 (8.82)	0.83	-0.07
GlicemiaDigiuno (media (SD)), mg/dL	159.30 (40.28)	167.34 (50.07)	0.016	0.19	162.99 (36.35)	162.69 (48.69)	0.39	-0.01
HbA1c (media (SD)), %	7.56 (0.95)	8.07 (1.33)	<0.001	0.5	7.85 (0.90)	7.80 (1.17)	0.27	-0.05
Colesterolo (media (SD)), mg/dL	164.98 (35.54)	168.26 (38.46)	0.248	0.09	165.74 (34.13)	163.01 (37.39)	0.44	-0.08
ColesteroloHDL (media (SD)), mg/dL	49.98 (14.38)	46.36 (13.12)	0.001	-0.26	46.95 (13.19)	47.68 (13.04)	0.59	0.06
Trigliceridi (media (SD)), mg/dL	132.32 (64.84)	155.84 (85.85)	<0.001	0.34	143.91 (74.16)	141.77 (74.49)	0.68	-0.03
ColesteroloLDL (media (SD)), mg/dL	88.52 (30.47)	90.46 (33.09)	0.426	0.06	89.63 (30.27)	86.51 (32.72)	0.32	-0.1

Continua nella pagina seguente

4.2. Il caso reale statico affrontato mediante PSM

	Prima del PSM				Dopo il PSM			
	DPP4i	SGLT2i	pvalue	SMD	DPP4i	SGLT2i	pvalue	SMD
eGFR (media (SD)), mL/min/1.73 m ²	65.44 (23.51)	86.56 (15.01)	<0.001	0.95	84.05 (16.98)	84.58 (15.07)	0.74	0.03
AER (media (SD)), mg/24h	145.54 (459.65)	71.26 (189.62)	0.026	-0.18	55.86 (139.97)	64.32 (191.64)	0.98	0.05
MalattiaRenaleCron. (n(%))	372 (42.0)	9 (4.6)	<0.001	-0.82	9 (7.0)	9 (7.0)	0.86	0
Nefropatia (n(%))	555 (62.7)	96 (48.7)	<0.001	-0.29	59 (46.1)	60 (46.9)	0.96	0.02
Retinopatia (n(%))	130 (14.7)	32 (16.2)	0.658	0.04	21 (16.4)	22 (17.2)	0.18	0.02
Neuropatia (n(%))	33 (3.7)	16 (8.1)	0.013	0.21	5 (3.9)	10 (7.8)	0.85	0.17
EdemaMaculareDiab. (n(%))	40 (4.5)	9 (4.6)	1.000	0	9 (7.0)	8 (6.2)	0.93	-0.03
Ateroscl.Carotidea (n(%))	461 (52.1)	95 (48.2)	0.366	-0.08	63 (49.2)	65 (50.8)	1	0.03
Rivasc.Carotidea (n(%))	13 (1.5)	1 (0.5)	0.465	-0.09	0 (0.0)	1 (0.8)		0.09
TIAoIctus (n(%))	18 (2.0)	1 (0.5)	0.240	-0.12	1 (0.8)	1 (0.8)	0	0
InfartoMiocardico (n(%))	128 (14.5)	27 (13.7)	0.871	-0.02	18 (14.1)	19 (14.8)	0.9	0.02
Rivasc.Coron. (n(%))	67 (7.6)	19 (9.6)	0.408	0.08	10 (7.8)	11 (8.6)	1	0.03
CardiopatiaCoron. (n(%))	141 (15.9)	32 (16.2)	1.000	0.01	19 (14.8)	20 (15.6)	1	0.02
ScompensoCardiaco (n(%))	17 (1.9)	1 (0.5)	0.274	-0.11	1 (0.8)	1 (0.8)	1	0
IpertrofiaVentr.Sx (n(%))	272 (30.7)	52 (26.4)	0.264	-0.09	33 (25.8)	29 (22.7)	0.14	-0.07
ArteriopatiaPerif. (n(%))	95 (10.7)	15 (7.6)	0.238	-0.1	11 (8.6)	12 (9.4)	0.61	0.03
Rivasc.ArtiInf. (n(%))	8 (0.9)	3 (1.5)	0.696	0.06	2 (1.6)	3 (2.3)	1	0.06
Microangiopatia (n(%))	606 (68.5)	111 (56.3)	0.002	-0.26	67 (52.3)	69 (53.9)	0.62	0.03
Macroangiopatia (n(%))	546 (61.7)	112 (56.9)	0.239	-0.1	74 (57.8)	74 (57.8)	0.32	0

Continua nella pagina seguente

	Prima del PSM				Dopo il PSM			
	DPP4i	SGLT2i	pvalue	SMD	DPP4i	SGLT2i	pvalue	SMD
MalattiaCardiovasc. (n(%))	170 (19.2)	35 (17.8)	0.714	-0.04	21 (16.4)	23 (18.0)	0.28	0.04
InsulinaLenta (n(%))	146 (16.5)	68 (34.5)	<0.001	0.46	34 (26.6)	37 (28.9)	1	0.05
Metformina (n(%))	400 (45.2)	184 (93.4)	<0.001	1.04	115 (89.8)	116 (90.6)	1	0.03
Sulfaniluree (n(%))	232 (26.2)	40 (20.3)	0.101	-0.14	25 (19.5)	22 (17.2)	0.9	-0.06
Pioglitazone (n(%))	40 (4.5)	3 (1.5)	0.081	-0.15	1 (0.8)	2 (1.6)	1	0.07
GLP-1RA (n(%))	0 (0.0)	1 (0.5)	0.410	0.17	0 (0.0)	0 (0.0)	1	0
Acarbosio (n(%))	1 (0.1)	0 (0.0)	1.000	-0.04	0 (0.0)	0 (0.0)	1	0
ClassiGLMPrec. (media (SD)), n	1.49 (0.55)	1.72 (0.73)	<0.001	0.39	1.55 (0.60)	1.55 (0.64)	0.96	0.01
TempoDaIncl. (media (SD)), giorni	1694.85 (616.46)	1802.08 (682.67)	0.031	0.17	1790.94 (619.93)	1729.75 (745.03)	0.87	-0.09
ACEInibit. (n(%))	661 (74.7)	138 (70.1)	0.211	-0.11	88 (68.8)	86 (67.2)	0.51	-0.03
Diuretici (n(%))	509 (57.5)	89 (45.2)	0.002	-0.25	53 (41.4)	50 (39.1)	0.24	-0.05
BetaBloccanti (n(%))	213 (24.1)	54 (27.4)	0.372	0.08	30 (23.4)	29 (22.7)	0.73	-0.02
AltriAntipertensivi (n(%))	82 (9.3)	13 (6.6)	0.291	-0.09	6 (4.7)	8 (6.2)	1	0.07
CalcioAntagonisti (n(%))	294 (33.2)	66 (33.5)	1.000	0.01	40 (31.2)	39 (30.5)	0.78	-0.02
Statine (n(%))	600 (67.8)	143 (72.6)	0.220	0.1	89 (69.5)	89 (69.5)	1	0
Omega3oFibrati (n(%))	76 (8.6)	30 (15.2)	0.007	0.22	19 (14.8)	17 (13.3)	1	-0.04
PCSK9Inibit. (n(%))	0 (0.0)	0 (0.0)		0	0 (0.0)	0 (0.0)	1	0
Ezetimibe (n(%))	55 (6.2)	27 (13.7)	0.001	0.28	17 (13.3)	16 (12.5)	0.77	-0.02
Antiaggreganti (n(%))	461 (52.1)	109 (55.3)	0.456	0.06	70 (54.7)	68 (53.1)	0.64	-0.03
Anticoagulanti (n(%))	122 (13.8)	7 (3.6)	<0.001	-0.32	4 (3.1)	3 (2.3)	1	-0.05

4.3 Il TCPSM per la gestione del caso reale dinamico

Nella sezione 3.3 è stato proposto, ad evoluzione di quanto appena esposto relativamente al contesto reale statico, un RWS condotto tramite TCPSM per la gestione del particolare caso dinamico reale. Come già detto in tale occasione, scopo dello studio in questione è valutare l'efficacia dei farmaci SGLT2i rispetto ai DPP4i sulla nefropatia diabetica (in analogia con il precedente studio statico), includendo nell'analisi, questa volta, anche i numerosi pazienti che hanno assunto un farmaco della classe dei DPP4i prima di modificare il proprio piano terapeutico a favore di un SGLT2i.

Obiettivo di tale sezione sarà, oltre alla presentazione dei risultati dello studio dinamico, anche quello di mettere in luce le differenze che intercorrono tra i risultati conseguiti per mezzo dell'analisi statica e quelli raggiunti servendosi dell'approccio dinamico.

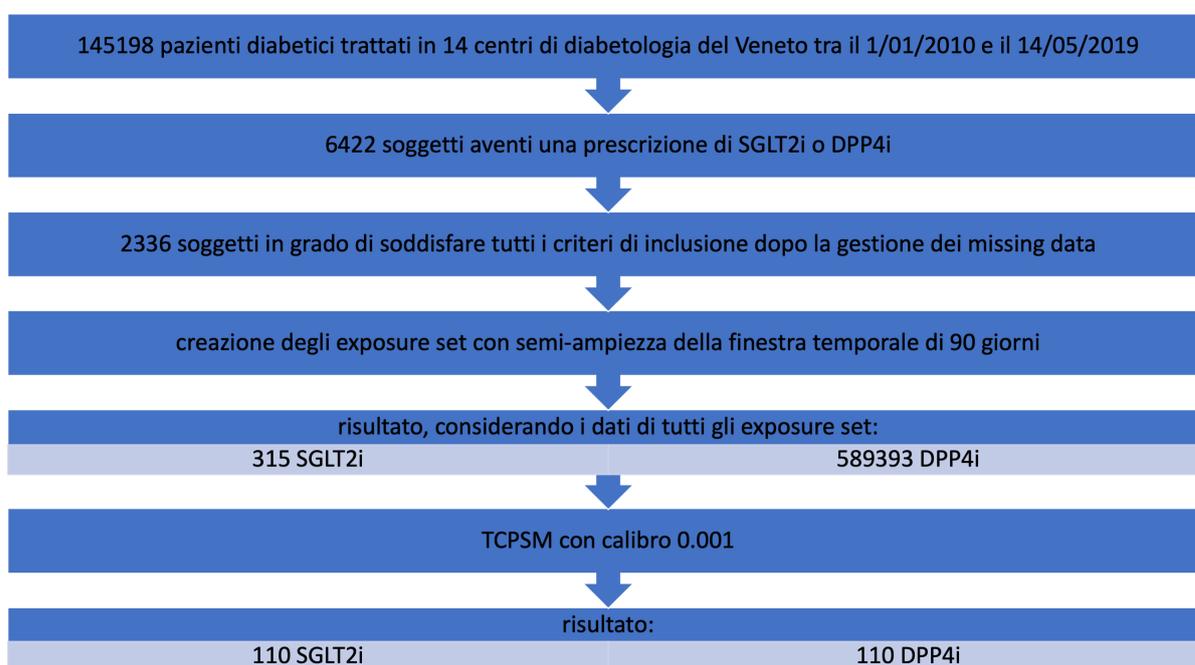


Figura 4.4: Descrizione visiva tramite flowchart del framework generale dello studio condotto tramite time-conditional propensity score matching.

Abbreviazioni: TCPSM, time-conditional propensity score matching; SGLT2i, inibitori del co-trasportatore di sodio-glucosio 2; DPP4i, inibitori della dipeptidil peptidasi-4.

Il flowchart in figura 4.4 permette di visualizzare, graficamente, il framework generale dello studio condotto tramite TCPSM. Partendo dalla stessa popolazione oggetto di studio del caso statico (145198 pazienti diabetici trattati in 14 centri di diabetologia veneti tra il 1/01/2010 e il 14/05/2019), sono stati selezionati 6422 soggetti aventi almeno una prescrizione di SGLT2i o DPP4i. Dopo aver applicato tutti i criteri di inclusione previsti per il caso in esame (descritti dettagliatamente nel secondo elenco puntato della sezione 3.3) e dopo aver provveduto alla gestione dei dati mancanti (tramite la procedura riportata nell'ultimo paragrafo della sezione 3.1), si è ottenuta una coorte di base di 2336 soggetti. È interessante notare, sin da subito, che tale numero è più che doppio rispetto a quello ottenuto nel contesto statico (1082, come riportato nella sezione 4.2): questo conferma l'abilità del metodo TCPSM di considerare, in ingresso,

una popolazione più ampia, comprensiva di tutti gli switcher. In particolare, 109 di tali 2336 soggetti risultano essere switcher. Un'altra ragione alla base di tale aumento del sample size nel caso dinamico rispetto a quello statico risiede nella possibilità, permessa solo in contesto dinamico, di includere nell'analisi anche tutti i pazienti aventi una prescrizione valida di SGLT2i o DPP4i in occasione della prima visita in assoluto, ovvero quella con cui i soggetti stessi hanno fatto ingresso nel database originario. Nel caso statico, invece, possono essere considerati solo i nuovi iniziatori di un farmaco di una delle due classi in questione, escludendo, pertanto, tutti coloro che registrano una prescrizione di un SGLT2i o di un DPP4i alla prima visita in assoluto. Il passo successivo per il pre-processing del database consiste nella creazione degli exposure set; per la semi-ampiezza δ della finestra temporale si è scelto il valore di 90 giorni. Considerando i dati aggregati di tutti i 315 exposure set (uno per ogni soggetto trattato con SGLT2i), si registrano 589393 controlli. Anche in questo caso è opportuno il confronto con il precedente caso statico: in quell'occasione la coorte di base contava 197 nuovi iniziatori di un SGLT2i, a fronte dei 315 trattati con un SGLT2i del caso dinamico ora considerato.

La coorte di base così ottenuta è caratterizzata da un elevato sbilanciamento della distribuzione delle covariate alla baseline nei due diversi gruppi di pazienti. Tale fatto è ben visibile nella parte sinistra della tabella 4.3, che si riferisce alla situazione antecedente il match e considera i dati aggregati di tutti gli exposure set. In essa sono riportati, infatti, la media e la deviazione standard delle variabili continue, la frequenza e la percentuale di quelle binarie, il p value ottenuto in seguito all'applicazione dei test statistici più appropriati (Wilcoxon Mann-Whitney U per le variabili continue e χ^2 per le variabili binarie) e la valutazione dell'effect size tramite SMD. Ai dati tabulari in questione si aggiunge anche la visualizzazione grafica del valore del modulo della SMD delle covariate dei pazienti prima del match, fornita tramite i puntini rossi della figura 4.5.

Su tale coorte di base è stato applicato il TCPSM con calibro; il calibro scelto in questo caso è 0.001. Al termine del processo di matching sono state ottenute due sub-coorti bilanciate di 110 pazienti ciascuna. Di questi 220 soggetti accoppiati, 103 non risultano essere stati inclusi nella coorte di base di pazienti pre-match del caso statico. Questo fatto è di notevole importanza: come già messo in risalto nella sezione 1.4, la potenza del TCPSM non risiede tanto nella capacità di considerare sample size maggiori (tant'è che, in questo particolare caso, i soggetti post-match del caso dinamico sono in numero inferiore rispetto a quelli del caso statico che, come visto nella sezione 4.2, sono 128), quanto nell'abilità di cogliere la situazione clinica reale, considerando nell'analisi una popolazione diversa rispetto a quella del caso statico e comprendente, in particolare, i numerosi switcher. Il bilanciamento delle covariate dei pazienti nelle due sotto-coorti post-match è ben visibile dai dati riportati nella parte destra della tabella 4.3; tale tabella, per ogni covariata, riporta le stesse metriche descrittive e statistiche utilizzate per l'analisi esplorativa della distribuzione delle covariate dei soggetti nella situazione pre-match, ben descritte nel paragrafo immediatamente precedente. Inoltre, la figura 4.5 riporta i dati relativi al modulo della SMD delle covariate dei pazienti nelle due diverse situazioni (ovvero prima e dopo l'applicazione del TCPSM). A differenza del caso statico, 16 delle 52 variabili utilizzate come regressori nella regressione logistica condizionale per il calcolo dei TCPS all'interno

del processo di TCPSM risultano non rispettare il vincolo sulla SMD. Tale risultato, tuttavia, non deve trarre in inganno, dal momento che tali variabili sono in grado di rispettare il criterio alternativo (e più stringente), ovvero quello sul p value. Pertanto, la procedura di TCPSM con calibro risulta essere corretta anche nel caso dinamico, sulla base dei due criteri combinati (uno sul p value, l'altro sulla SMD) esposti nei punti 6 e 7 dell'elenco numerato della sezione 2.2. Per quanto riguarda la distribuzione dei farmaci nelle due sub-coorti successive al match vale quanto di seguito riportato: dei 110 soggetti appartenenti alla coorte degli SGLT2i, il 25% assume dapagliflozin, il 18% canagliflozin, il 57% empagliflozin; nella coorte dei trattati con DPP4i si registrano, invece, le seguenti percentuali: 27% per sitagliptin, 38% per vildagliptin, 4% per saxagliptin, 20% per alogliptin e 11% per linagliptin. Il paziente medio ha 66 anni, una diagnosi di diabete da 12 anni, BMI pari a 30 kg/m² e un valore di HbA1c alla baseline pari a 7.7%. La prevalenza di micro- e macroangiopatia si attesta sui valori 42% e 55%, rispettivamente. Il 70% dei pazienti assume metformina, mentre il 67% di essi è trattato con statine.

In analogia con il caso statico, anche nel caso dinamico in oggetto si è scelto di considerare, come output di interesse, un dato aggregato lungo il tempo, rappresentato dalla slope annualizzata dell'eGFR. Procedendo, ancora, in analogia con quanto fatto nel caso statico, si è assunto un approccio di tipo ITT per il calcolo del periodo di follow-up; tale approccio ha consentito di considerare un follow-up avente mediana pari a 665 giorni (IQR [371; 1008]).

Nella sub-coorte dei trattati con gli SGLT2i si è registrato un valore della mediana della slope annualizzata dell'eGFR pari a -0.33 (IQR [-2.84; 3.72]) mL/min/1.73 m² anno; per quanto riguarda, invece, la coorte dei trattati con i DPP4i, i valori per il medesimo outcome di interesse sono: mediana -1.13 (IQR [-3.41; 1.36]) mL/min/1.73 m² anno. In analogia con quanto fatto nel caso statico, si è proceduto con la conduzione del test statistico Wilcoxon Mann-Whitney U per confrontare la slope annualizzata dell'eGFR nelle due sotto-coorti di pazienti: è risultata una differenza statisticamente significativa (p value=0.031) tra le mediane dell'outcome di interesse nei due gruppi. Di conseguenza, il metodo dinamico applicato all'RWS in questione ha confermato, rafforzando la validità del risultato in nome di una maggiore adesione allo scenario clinico reale, quanto emerso dall'analogo studio in contesto statico: gli SGLT2i sembrano essere più nefroprotettivi dei DPP4i.

Dopo, invece, l'applicazione del test statistico Wilcoxon a un campione, solo la mediana della slope annualizzata dell'eGFR relativa al gruppo dei trattati con i DPP4i si è rivelata essere significativamente minore di 0 (p value pari a 0.02). È opportuno mettere in luce che tale risultato si discosta da quanto ottenuto nel caso statico, in cui entrambe le mediane assumevano valori significativamente negativi. Ancora una volta, tale differenza è indice della diversa popolazione presa in esame dai due diversi metodi di matching.

I risultati appena descritti sono rappresentati per via grafica nella figura 4.6.

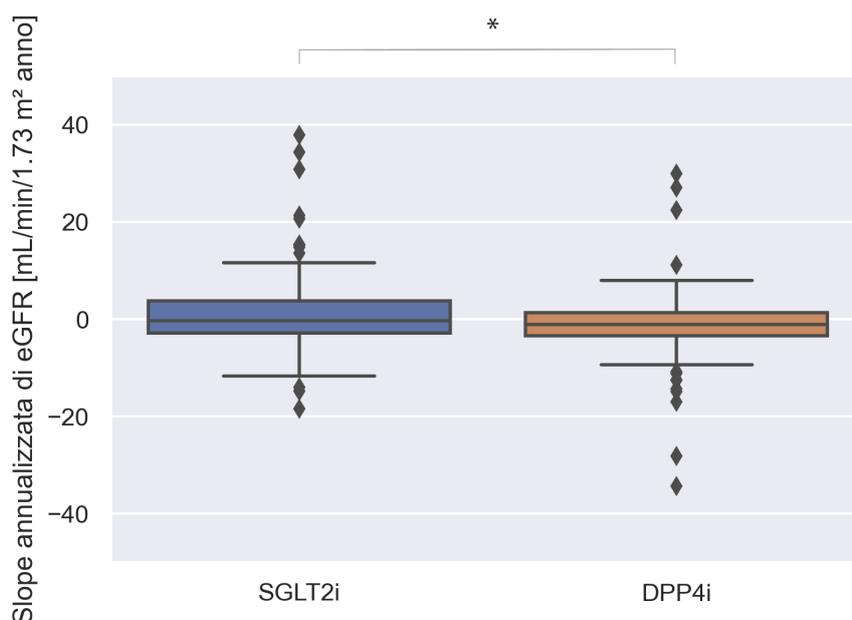


Figura 4.6: Boxplot della slope annualizzata del tasso di filtrazione glomerulare stimato nelle due sub-coorti di pazienti dopo il time-conditional propensity score matching.

Note: L'asterisco (*) simboleggia una differenza statisticamente significativa tra le mediane della slope annualizzata dell'eGFR nei due gruppi con livello di significatività pari a 0.05.

Abbreviazioni: SGLT2i, inibitori del co-trasportatore di sodio-glucosio 2; DPP4i, inibitori della dipeptidil peptidasi-4; eGFR, tasso di filtrazione glomerulare stimato.

Tabella 4.3: Covariate dei pazienti prima e dopo il time-conditional propensity score matching.

Note: Per la situazione prima del matching sono stati utilizzati i dati di tutti gli exposure set.

Abbreviazioni: TCPSM, time-conditional propensity score matching; SMD, standardised mean difference; SGLT2i, inibitori del co-trasportatore di sodio-glucosio 2; DPP4i, inibitori della dipeptidil peptidasi-4; BMI, indice di massa corporea; PressioneSist., pressione sistolica; PressioneDiast., pressione diastolica; HbA1c, emoglobina glicata; AER, velocità di escrezione dell'albumina; MalattiaRenaleCron., malattia renale cronica; EdemaMaculareDiab., edema maculare diabetico; TIA, attacco ischemico transitorio; RivascCoron, rivascularizzazione coronarica; IpertrofiaVentr.Sx, ipertrofia ventricolare sinistra; Rivasc.ArteriInf., rivascularizzazione degli arti inferiori; ArteriopatiaPerif., arteriopatia periferica; Ateroscl.Carotidea, aterosclerosi carotidea; Rivasc.Carotidea, rivascularizzazione carotidea; CardiopatiaCoron., cardiopatia coronarica; MalattiaCardiovasc., malattia cardiovascolare; GLP-1RA, agonisti del recettore di glucagon-like peptide 1; ACEInibit., ACE inibitori; PCSK9Inibit., PCSK9 inibitori; ClassiGLMPrec., classi di farmaci ipoglicemizzanti precedenti; TempoDaIncl., tempo trascorso dall'ingresso nel database; eGFR, tasso di filtrazione glomerulare stimato.

	Prima del TCPSM				Dopo il TCPSM			
	DPP4i	SGLT2i	pvalue	SMD	DPP4i	SGLT2i	pvalue	SMD
n	589393	315			110	110		
Età (media (SD)), anni	71.72 (10.10)	62.98 (8.57)	<0.001	-0.87	66.85 (9.50)	65.89 (8.77)	0.21	-0.11
Sesso m. (n(%))	348667 (59.2)	207 (65.7)	0.021	0.13	67 (60.9)	71 (64.5)	1	0.07

Continua nella pagina seguente

	Prima del TCPSM				Dopo il TCPSM			
	DPP4i	SGLT2i	pvalue	SMD	DPP4i	SGLT2i	pvalue	SMD
DurataDiabete (media (SD)), anni	13.47 (8.86)	12.14 (7.52)	0.008	-0.15	12.14 (7.86)	11.90 (8.04)	0.69	-0.03
Peso (media (SD)), kg	79.76 (15.52)	90.91 (17.52)	<0.001	0.72	83.77 (14.81)	84.80 (14.58)	0.57	0.07
BMI (media (SD)), kg/m ²	28.99 (4.94)	31.95 (5.81)	<0.001	0.6	30.34 (5.10)	30.32 (4.85)	0.82	0
PressioneSist. (media (SD)), mmHg	138.92 (17.97)	138.07 (18.64)	0.402	-0.05	139.44 (15.97)	138.74 (19.11)	0.47	-0.04
PressioneDiast. (media (SD)), mmHg	77.39 (9.28)	80.41 (9.62)	<0.001	0.33	80.47 (8.28)	77.97 (8.28)	0.05	-0.3
GlicemiaDigiuno (media (SD)), mg/dL	152.84 (39.70)	166.36 (51.14)	<0.001	0.34	154.35 (37.50)	153.22 (42.40)	0.58	-0.03
HbA1c (media (SD)), %	7.34 (0.93)	8.11 (1.28)	<0.001	0,82	7.61 (1.02)	7.71 (1.06)	0.51	0.09
Colesterolo (media (SD)), mg/dL	162.67 (34.88)	169.61 (39.27)	<0.001	0.2	162.35 (30.41)	166.33 (41.53)	0.56	0.11
ColesteroloHDL (media (SD)), mg/dL	49.92 (14.26)	46.71 (12.78)	<0.001	-0.22	49.48 (14.66)	48.32 (13.20)	0.69	-0.08
Trigliceridi (media (SD)), mg/dL	133.21 (69.68)	153.38 (83.43)	<0.001	0.29	145.09 (89.23)	143.06 (88.37)	0.83	-0.02
ColesteroloLDL (media (SD)), mg/dL	86.20 (30.14)	91.99 (33.28)	0.001	0.19	83.62 (28.04)	89.33 (35.56)	0.26	0.18
AER (media (SD)), mg/24h	130.21 (465.58)	64.34 (161.24)	0.012	-0.14	49.92 (139.63)	63.31 (204.78)	0.51	0.08
MalattiaRenaleCron. (n(%))	209607 (35.6)	16 (5.1)	<0.001	-0.64	11 (10.0)	13 (11.8)	1	0.06
Retinopatia (n(%))	88621 (15.0)	48 (15.2)	0.983	0.01	13 (11.8)	17 (15.5)	1	0.11
Neuropatia (n(%))	20382 (3.5)	20 (6.3)	0.008	0.16	2 (1.8)	2 (1.8)	1	0
EdemaMaculareDiab. (n(%))	21618 (3.7)	17 (5.4)	0.138	0.09	4 (3.6)	8 (7.3)	1	0.16
TIAoIctus (n(%))	10640 (1.8)	2 (0.6)	0.178	-0.09	1 (0.9)	1 (0.9)	1	0
Rivasc.Coron. (n(%))	43131 (7.3)	24 (7.6)	0.923	0.01	6 (5.5)	7 (6.4)	1	0.04
ScompensoCardiaco (n(%))	19145 (3.2)	3 (1.0)	0.032	-0.13	1 (0.9)	2 (1.8)	1	0.08

Continua nella pagina seguente

4.3. Il TCPSM per la gestione del caso reale dinamico

	Prima del TCPSM				Dopo il TCPSM			
	DPP4i	SGLT2i	pvalue	SMD	DPP4i	SGLT2i	pvalue	SMD
IpertrofiaVentr.Sx (n(%))	143508 (24.3)	72 (22.9)	0.582	-0.03	29 (26.4)	16 (14.5)	0.16	-0.29
Rivasc.ArteriInf. (n(%))	5725 (1.0)	4 (1.3)	0.801	0.03	1 (0.9)	2 (1.8)	1	0.08
ArteriopatiaPerif. (n(%))	64512 (10.9)	18 (5.7)	0.004	-0.17	5 (4.5)	7 (6.4)	1	0.08
Ateroscl.Carotidea (n(%))	286115 (48.5)	137 (43.5)	0.082	-0.1	64 (58.2)	49 (44.5)	0.43	-0.27
Rivasc.Carotidea (n(%))	5733 (1.0)	2 (0.6)	0.746	-0.03	0 (0.0)	1 (0.9)		0.09
InfartoMiocardico (n(%))	82303 (14.0)	33 (10.5)	0.088	-0.1	13 (11.8)	11 (10.0)	0.43	-0.06
CardiopatiaCoron. (n(%))	90660 (15.4)	39 (12.4)	0.162	-0.08	15 (13.6)	12 (10.9)	0.31	-0.08
Macroangiopatia (n(%))	339574 (57.6)	156 (49.5)	0.004	-0.16	69 (62.7)	55 (50.0)	0.69	-0.26
MalattiaCardiovasc. (n(%))	107585 (18.3)	44 (14.0)	0.058	-0.11	17 (15.5)	15 (13.6)	0.53	-0.05
Nefropatia (n(%))	322407 (54.7)	142 (45.1)	0.001	-0.19	44 (40.0)	40 (36.4)	0.84	-0.07
Microangiopatia (n(%))	360102 (61.1)	165 (52.4)	0.002	-0.18	49 (44.5)	46 (41.8)	0.44	-0.05
InsulinaLenta (n(%))	92864 (15.8)	115 (36.5)	<0.001	0.57	23 (20.9)	26 (23.6)	0.97	0.07
Metformina (n(%))	271083 (46.0)	259 (82.2)	<0.001	0.73	79 (71.8)	74 (67.3)	0.54	-0.1
Sulfaniluree (n(%))	168375 (28.6)	58 (18.4)	<0.001	-0.22	20 (18.2)	24 (21.8)	0.61	0.09
Pioglitazone (n(%))	20415 (3.5)	5 (1.6)	0.096	-0.1	2 (1.8)	2 (1.8)	1	0
GLP-1RA (n(%))	0 (0.0)	0 (0.0)		0	0 (0.0)	0 (0.0)	1	0
Acarbosio (n(%))	9069 (1.5)	2 (0.6)	0.283	-0.07	1 (0.9)	2 (1.8)	1	0.08
ACEInibit. (n(%))	412966 (70.1)	212 (67.3)	0.313	-0.06	80 (72.7)	66 (60.0)	0.51	-0.27
Diuretici (n(%))	294202 (49.9)	129 (41.0)	0.002	-0.18	48 (43.6)	41 (37.3)	1	-0.13
BetaBloccanti (n(%))	129036 (21.9)	70 (22.2)	0.942	0.01	21 (19.1)	19 (17.3)	0.23	-0.05

Continua nella pagina seguente

	Prima del TCPSM				Dopo il TCPSM			
	DPP4i	SGLT2i	pvalue	SMD	DPP4i	SGLT2i	pvalue	SMD
AltriAntipertensivi (n(%))	44875 (7.6)	20 (6.3)	0.459	-0.05	7 (6.4)	5 (4.5)	0.73	-0.08
CalcioAntagonisti (n(%))	160764 (27.3)	82 (26.0)	0.665	-0.03	30 (27.3)	24 (21.8)	0.31	-0.13
Statine (n(%))	378931 (64.3)	201 (63.8)	0.905	-0.01	79 (71.8)	72 (65.5)	0.59	-0.14
Omega3oFibrati (n(%))	50999 (8.7)	45 (14.3)	0.001	0.2	14 (12.7)	11 (10.0)	1	-0.09
PCSK9Inibit. (n(%))	0 (0.0)	0 (0.0)		0	0 (0.0)	0 (0.0)	1	0
Ezetimibe (n(%))	50603 (8.6)	42 (13.3)	0.004	0.17	10 (9.1)	9 (8.2)	0.7	-0.03
Antiaggreganti (n(%))	303245 (51.5)	164 (52.1)	0.872	0.01	55 (50.0)	54 (49.1)	0.34	-0.02
Anticoagulanti (n(%))	62116 (10.5)	11 (3.5)	<0.001	-0.23	6 (5.5)	3 (2.7)	1	-0.14
ClassiGLMPrec. (media (SD)), n	1.35 (0.91)	1.52 (1.02)	0.001	0.19	1.40 (0.89)	1.22 (1.03)	0.14	-0.19
TempoDaIncl. (media (SD)), giorni	1232.15 (857.56)	1495.43 (943.72)	<0.001	0.31	1319.14 (816.24)	1238.24 (1012.63)	0.94	-0.09
eGFR (media (SD)), mL/min/1.73 m ²	68.78 (23.20)	86.91 (15.02)	<0.001	0.78	79.65 (20.50)	81.56 (16.50)	0.38	0.1

Capitolo 5

Conclusioni e sviluppi futuri

5.1 Bilancio del lavoro svolto

5.1.1 Base di partenza

Il continuo aumento dell'incidenza del diabete di tipo 2, accompagnato dal progressivo invecchiamento della popolazione mondiale, implica la necessità di prevenire le numerose complicanze che la patologia in questione è in grado di causare. Tra queste, la nefropatia risulta essere particolarmente allarmante: se, grazie alle recenti scoperte scientifiche, negli ultimi decenni si è riusciti a migliorare la prognosi cardiovascolare dei pazienti diabetici, altrettanto non si può dire in relazione alle complicanze renali, che continuano ad essere molto diffuse e a causare tassi di mortalità elevati. A fronte di ciò, risulta necessario rivolgere l'attenzione alle opportunità terapeutiche in grado di consentire, contemporaneamente, il controllo glicemico e la prevenzione di tali complicanze renali. Tra i farmaci ipoglicemizzanti ad oggi disponibili per la terapia del diabete di tipo 2, gli SGLT2i risultano essere, dai risultati preliminari ottenuti dagli RCT finora condotti, particolarmente promettenti in questo senso. Tuttavia, gli esiti degli RCT devono essere confermati sul campo, mettendo a punto ulteriori studi, basati sui dati del mondo clinico reale, per validare tali risultati preliminari ed estenderli a categorie di pazienti più ampie. Dal problema medico ci si sposta, dunque, alla sfida metodologica: affinché gli RWS forniscano risultati affidabili, è necessario avvalersi dei più adeguati strumenti metodologici. Rispetto agli studi prospettici, infatti, negli studi retrospettivi la scelta del trattamento da assegnare a ciascun soggetto è spesso influenzata dalle caratteristiche del soggetto stesso. Ne risulta, dunque, che le caratteristiche dei soggetti trattati con un determinato farmaco possano essere molto differenti da quelle dei soggetti trattati con un farmaco alternativo. Nel processo di stima dell'effetto netto di un dato trattamento su di un evento clinico di interesse, è fondamentale, dunque, tenere conto delle differenze sistematiche che intercorrono tra le due diverse coorti di pazienti. Lo stato dell'arte per la correzione per tali agenti confondenti è rappresentato dal PSM. Tale tecnica, sebbene assunta come gold standard per la conduzione degli RWS in ambito farmacoepidemiologico, è applicabile al solo contesto statico, caratterizzato dall'assenza di modifiche, nel tempo, del piano terapeutico dei pazienti inclusi nell'analisi. L'applicazione di tale tecnica di matching alla valutazione d'efficacia di un farmaco ipoglicemizzante sulla nefropatia diabe-

tica risulta, pertanto, limitante: dal momento che la terapia diabetica è di tipo additivo, è molto frequente che i soggetti apportino dei cambi al proprio piano terapeutico. Per poter cogliere le reali dinamiche dello scenario clinico appare necessario, dunque, includere nell'analisi anche i numerosi switcher; a tale proposito, come evoluzione della tecnica tradizionale statica, è stato di recente proposto un metodo dinamico per la correzione per i confounder, il TCPSM. Si tratta di una tecnica poco esplorata dalla letteratura ma, apparentemente, promettente.

5.1.2 Contributo metodologico dell'elaborato

Tutto ciò premesso, gli obiettivi di questo elaborato sono stati quelli di seguito esposti. In prima battuta, ci si è proposti di valutare la solidità dell'intero processo di conduzione di un RWS tramite la tecnica standard del PSM in un contesto simulato. Successivamente, ci si è soffermati sull'applicazione di tale tecnica di matching statica nel contesto reale della valutazione d'efficacia dei farmaci SGLT2i rispetto ai DPP4i sulla nefropatia diabetica. Infine, in relazione alla medesima applicazione clinica, si è condotto un RWS mediante la tecnica innovativa del TCPSM. In relazione a quest'ultimo aspetto, si è rivolta particolare attenzione al punto di vista metodologico, con l'implementazione step-by-step del metodo dinamico (per il quale non è disponibile, ad oggi, una libreria software dedicata) e l'aggiunta di una miglioria rispetto alla proposta reperibile in letteratura (ovvero il calibro).

5.1.3 Sommario dei risultati

I risultati ottenuti in relazione a tutti gli obiettivi sopracitati sono stati soddisfacenti. La simulazione statica ha confermato la potenza della tecnica di matching tradizionale nel creare due sub-coorti di pazienti con caratteristiche simili alla baseline nei contesti simulati più disparati. Inoltre, ha fornito un'evidenza interessante: nel caso particolare in cui si contempla un dato di tipo time-to-event come outcome di interesse, per percentuali medio-alte di censura destra l'intera procedura di stima dell'ATT ha un alto rischio di fallire. Tale considerazione ha supportato la scelta, nei due scenari reali, di un outcome di tipo diverso rispetto a quello time-to-event: la slope annualizzata dell'eGFR che, in quanto dato aggregato lungo il tempo, è meno sensibile alle problematiche introdotte dalla censura. Per quanto riguarda, dunque, il caso reale statico, l'analisi condotta tramite PSM ha fornito i risultati attesi: come evidenziato dagli esiti preliminari degli RCT, l'inizio di una terapia con i farmaci SGLT2i è significativamente correlato a una migliore prognosi renale rispetto ai DPP4i (differenza tra le mediane della slope annualizzata dell'eGFR pari a 1.43 mL/min/1.73 m² anno, in favore degli SGLT2i). Tuttavia, come detto, tale metodo non è in grado di cogliere la complessità dello scenario dinamico reale, dal momento che non è in grado di includere nell'analisi i numerosi pazienti diabetici che apportano modifiche, nel tempo, al proprio piano terapeutico. Per far fronte a questa limitazione, si è implementato il TCPSM. Dal processo di implementazione in questione è emerso che il metodo, così come proposto in letteratura, non è in grado di rispettare le aspettative in termini di efficienza di funzionamento, specialmente per quanto riguarda i pazienti con terapia in corso all'ingresso nello studio. Si è, dunque, implementata una naturale estensione dell'algoritmo per

prevedere l'ulteriore grado di libertà dato dall'aggiunta di un calibro analogo a quello utilizzato nella versione statica. Anche nel caso reale dinamico, dunque, si sono ottenuti dei risultati confortanti: ancora una volta, gli SGLT2i si sono rivelati migliori dei DPP4i per quanto concerne le complicanze renali diabetiche. Inoltre, dal confronto a step paralleli dei risultati ottenuti dalle due diverse tecniche di matching sul medesimo problema clinico, è emerso che, effettivamente, il TCPSM e il PSM considerano popolazioni differenti, confermando l'ipotesi che il punto di forza dirimente del metodo dinamico non sia tanto quello di condurre a un aumento del sample size, bensì quello di includere nell'analisi i numerosi switcher, rispecchiando il reale scenario clinico. Pertanto, i risultati ottenuti dal presente elaborato sono significativi sia sul fronte metodologico, sia dal punto di vista clinico: da un lato, è stata sondata l'efficacia delle due tecniche di matching; dall'altro lato, è stata fornita un'ulteriore evidenza, basata sui dati reali, a supporto delle caratteristiche nefroprotettive degli SGLT2i.

5.2 Sviluppi futuri

Ad integrazione e sviluppo di quanto proposto nel presente elaborato, possibili sviluppi futuri includono l'estensione formale del framework di simulazione statico a tipologie di outcome diverse da quella time-to-event (in questo modo, infatti, si potrebbe valutare la robustezza del PSM in condizioni di più ampio respiro) e all'ambito della conduzione degli RWS con la tecnica del TCPSM (per poter valutare, in un contesto simulato, anche le prestazioni del metodo dinamico). Parallelamente, si procederà al raffinamento e generalizzazione delle librerie implementate in-house per l'applicazione del TCPSM, mirando alla pubblicazione di un pacchetto in linguaggio di programmazione R o Python per l'implementazione automatica del metodo dinamico.

Bibliografia

- [1] The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, “Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus,” *Diabetes Care*, vol. 26, pp. 5–20, 2003.
- [2] W. Kerner e J. Brückel, “Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus,” *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, vol. 122, n. 7, pp. 384–386, 2014.
- [3] American Diabetes Association, “Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes,” *Diabetes Care*, vol. 42, pp. 13–28, 2018.
- [4] R. A. De Fronzo et al., “Type 2 diabetes mellitus,” *Nature Reviews Disease Primers*, vol. 1, n. 1, pp. 1–22, 2015.
- [5] J. S. Skyler et al., “Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis,” *Diabetes*, vol. 66, n. 2, pp. 241–255, 2016.
- [6] U. Risérus, W. C. Willett e F. B. Hu, “Dietary fats and prevention of type 2 diabetes,” *Progress in Lipid Research*, vol. 48, n. 1, pp. 44–51, 2009.
- [7] National Diabetes Data Group, “Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Other Categories of Glucose Intolerance,” *Diabetes*, vol. 28, n. 12, pp. 1039–1057, 1979.
- [8] H. Bastian, P. Glasziou e I. Chalmers, “Seventy-Five Trials and Eleven Systematic Reviews a Day: How Will We Ever Keep Up?” *PLoS Medicine*, vol. 7, n. 9, pp. 48–50, 2010.
- [9] R. Retnakaran, C. A. Cull et al., “Risk Factors for Renal Dysfunction in Type 2 Diabetes: U.K. Prospective Diabetes Study 74,” *Diabetes*, vol. 55, n. 6, pp. 1832–1839, 2006.
- [10] C. E. Lok et al., “KDOQI Clinical Practice Guideline for Vascular Access: 2019 Update,” *American Journal of Kidney Diseases*, vol. 75, n. 4, pp. 1–164, 2020.
- [11] E. Biancalana, F. Parolini e A. Solini, “Il paziente con diabete tipo 2 e insufficienza renale,” *L’Endocrinologo*, vol. 20, n. 4, pp. 225–230, 2019.
- [12] R. J. MacIsaac, C. Tsalamandris, S. Panagiotopoulos, T. J. Smith, K. J. McNeil e G. Jerums, “Nonalbuminuric Renal Insufficiency in Type 2 Diabetes,” *Diabetes Care*, vol. 27, n. 1, pp. 195–200, 2004.
- [13] G. P. Fadini, S. Del Prato, A. Avogaro e A. Solini, “Challenges and opportunities in real-world evidence on the renal effects of sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors,” *Diabetes, Obesity and Metabolism*, vol. 24, n. 2, pp. 177–186, 2022.

- [14] American Diabetes Association, “Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes,” *Diabetes Care*, vol. 42, pp. 90–102, 2018.
- [15] A. Qaseem, L. L. Humphrey, D. E. Sweet, M. Starkey e P. Shekelle, “Oral Pharmacologic Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus: A Clinical Practice Guideline From the American College of Physicians,” *Annals of Internal Medicine*, vol. 156, n. 3, pp. 218–231, 2012.
- [16] C. M. George, L. L. Bruijn, K. Will e A. Howard-Thompson, “Management of Blood Glucose with Noninsulin Therapies in Type 2 Diabetes,” *American Family Physician*, vol. 92, n. 1, pp. 27–34, 2015.
- [17] M. D. Carlson e R. S. Morrison, “Study Design, Precision, and Validity in Observational Studies,” *Journal of Palliative Medicine*, vol. 12, n. 1, pp. 77–82, 2009.
- [18] M. L. Morieri et al., “Comparative effectiveness of dapagliflozin vs DPP-4 inhibitors on a composite endpoint of HbA1c, body weight and blood pressure reduction in the real world,” *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, vol. 37, n. 1, pp. 2037–2049, 2021.
- [19] V. Perkovic et al., “Canagliflozin and renal outcomes in type 2 diabetes and nephropathy,” *New England Journal of Medicine*, vol. 380, n. 24, pp. 2295–2306, 2019.
- [20] B. Zinman et al., “Empagliflozin, cardiovascular outcomes, and mortality in type 2 diabetes,” *New England Journal of Medicine*, vol. 373, n. 22, pp. 2117–2128, 2015.
- [21] B. Neal et al., “Canagliflozin and cardiovascular and renal events in type 2 diabetes,” *New England Journal of Medicine*, vol. 377, n. 7, pp. 644–657, 2017.
- [22] H. J. Heerspink et al., “Dapagliflozin in patients with chronic kidney disease,” *New England Journal of Medicine*, vol. 383, n. 15, pp. 1436–1446, 2020.
- [23] H. J. Heerspink et al., “Kidney outcomes associated with use of SGLT2 inhibitors in real-world clinical practice (CVD-REAL 3): a multinational observational cohort study,” *The lancet Diabetes & endocrinology*, vol. 8, n. 1, pp. 27–35, 2020.
- [24] P. C. Austin, “An Introduction to Propensity Score Methods for Reducing the Effects of Confounding in Observational Studies,” *Multivariate Behavioral Research*, vol. 46, n. 3, pp. 399–424, 2011.
- [25] J. J. Gagne, K. Bykov, R. J. Willke, K. H. Kahler, P. Subedi e S. Schneeweiss, “Treatment Dynamics of Newly Marketed Drugs and Implications for Comparative Effectiveness Research,” *Value in Health*, vol. 16, n. 6, pp. 1054–1062, 2013.
- [26] P. R. Rosenbaum e D. B. Rubin, “The central role of the propensity score in observational studies for causal effects,” *Biometrika*, vol. 70, n. 1, pp. 41–55, 1983.
- [27] E. S. Johnson et al., “The incident user design in comparative effectiveness research,” *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*, vol. 22, n. 1, pp. 1–6, 2013.
- [28] S. Suissa, E. E. M. Moodie e S. Dell’Aniello, “Prevalent new-user cohort designs for comparative drug effect studies by time-conditional propensity scores,” *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*, vol. 26, n. 4, pp. 459–468, 2017.

- [29] T. Hastie, R. Tibshirani, J. H. Friedman e J. H. Friedman, *The elements of statistical learning: data mining, inference, and prediction*. Springer, 2009, vol. 2.
- [30] T. W. MacFarland e J. M. Yates, *Introduction to nonparametric statistics for the biological sciences using R*. Springer, 2016.
- [31] L. V. Hedges, J. E. Pustejovsky e W. R. Shadish, “A standardized mean difference effect size for single case designs,” *Research Synthesis Methods*, vol. 3, n. 3, pp. 224–239, 2012.
- [32] Z. Zhang, H. J. Kim, G. Lonjon e Y. Zhu, “Balance diagnostics after propensity score matching,” *Annals of Translational Medicine*, vol. 7, n. 1, p. 16, 2019.
- [33] S. J. Walters, *What is a Cox model?* Hayward Medical Communications Newmarket, England, 1999.
- [34] P. M. Grambsch e T. M. Therneau, “Modeling survival data: extending the Cox model,” *Statistics for Biology and Health*, 2000.
- [35] D. E. Ho, K. Imai, G. King e E. A. Stuart, “Matching as Nonparametric Preprocessing for Reducing Model Dependence in Parametric Causal Inference,” *Political Analysis*, vol. 15, n. 3, pp. 199–236, 2007.
- [36] P. C. Austin e D. S. Small, “The use of bootstrapping when using propensity-score matching without replacement: a simulation study,” *Statistics in Medicine*, vol. 33, n. 24, pp. 4306–4319, 2014.
- [37] C. Solanki, P. Thapliyal e K. Tomar, “Role of bisection method,” *International Journal of Computer Applications Technology and Research*, vol. 3, n. 8, pp. 535–535, 2014.
- [38] R. Bender, T. Augustin e M. Blettner, “Generating survival times to simulate Cox proportional hazards models,” *Statistics in medicine*, vol. 24, n. 11, pp. 1713–1723, 2005.
- [39] F. Hsieh e P. W. Lavori, “Sample-size calculations for the Cox proportional hazards regression model with nonbinary covariates,” *Controlled clinical trials*, vol. 21, n. 6, pp. 552–560, 2000.
- [40] M. H. Gail, J. H. Lubin e L. V. Rubinstein, “Likelihood calculations for matched case-control studies and survival studies with tied death times,” *Biometrika*, vol. 68, n. 3, pp. 703–707, 1981.
- [41] N. Breslow, N. Day, K. Halvorsen, R. Prentice e C. Sabai, “Estimation of multiple relative risk functions in matched case-control studies,” *American Journal of Epidemiology*, vol. 108, n. 4, pp. 299–307, 1978.
- [42] A. S. Levey e L. A. Stevens, “Estimating GFR using the CKD epidemiology collaboration (CKD-EPI) creatinine equation: more accurate GFR estimates, lower CKD prevalence estimates, and better risk predictions,” *American Journal of Kidney Diseases*, vol. 55, n. 4, pp. 622–627, 2010.

- [43] W. T. Friedewald, R. I. Levy e D. S. Fredrickson, “Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge,” *Clinical chemistry*, vol. 18, n. 6, pp. 499–502, 1972.
- [44] S. Suissa, “Immortal time bias in pharmacoepidemiology,” *American journal of epidemiology*, vol. 167, n. 4, pp. 492–499, 2008.