



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PADOVA

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Sede Consorzziata: Alma Mater Studiorum Università di Bologna

Dipartimento di Farmacologia

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE FARMACOLOGICHE  
INDIRIZZO IN FARMACOLOGIA TOSSICOLOGIA E TERAPIA  
CICLO XXII

**IL RISCHIO DI TORSIONE DI PUNTA  
DA FARMACI ANTIBATTERICI:  
UN APPROCCIO FARMACO-EPIDEMIOLOGICO**

**Direttore della Scuola:** Ch.ma Prof.ssa Rosa Maria Gaion

**Coordinatore d'indirizzo:** Ch.ma Prof.ssa Rosa Maria Gaion

**Supervisore:** Ch.mo Prof. Gian Luigi Biagi

**Relatore:** Dott.ssa Elisabetta Poluzzi

**Dottorando:** Emanuel Raschi

|   |               |
|---|---------------|
| <b>SUMMARY .....</b>  | <b>4</b>      |
| WHAT IS ALREADY KNOWN ABOUT THIS SUBJECT .....  | 6             |
| WHAT THIS STUDY ADDS .....  | 6             |
| <br><b>SOMMARIO .....</b>   | <br><b>7</b>  |
| <br><b>1. INTRODUZIONE.....</b>   | <br><b>10</b> |
| 1.1 GENERALITÀ .....  | 10            |
| 1.2 MOTIVI DI INTERESSE .....   | 13            |
| 1.3 ASPETTI FARMACOLOGICI .....   | 17            |
| 1.3.1 <i>Il ruolo del canale K<sup>+</sup> hERG</i> .....   | 17            |
| 1.3.2 <i>Prolungamento dell'intervallo QT ed insorgenza di torsione di punta: un marker surrogato di cardio-tossicità</i> ..... | 23            |
| 1.3.3 <i>Il problema della dose dipendenza</i> .....  | 28            |
| 1.4 ASPETTI REGOLATORI .....  | 29            |
| 1.4.1 <i>Considerazioni generali</i> .....  | 29            |
| 1.4.2 <i>Gli studi pre-clinici</i> .....  | 29            |
| 1.4.3 <i>Gli studi clinici</i> .....  | 35            |
| <br><b>2. LA DIMENSIONE DEL PROBLEMA.....</b>   | <br><b>41</b> |
| 2.1 OBIETTIVO DELLO STUDIO.....   | 41            |
| 2.2 MATERIALI E METODI .....  | 42            |
| 2.2.1 <i>Identificazione ed organizzazione delle evidenze</i> .....   | 42            |
| 2.2.2 <i>Raccolta dei dati di consumo</i> .....   | 47            |
| 2.3 RISULTATI.....  | 49            |
| 2.3.1 <i>Analisi della letteratura</i> .....  | 49            |
| 2.3.2 <i>Analisi dei consumi</i> .....  | 52            |
| 2.4 DISCUSSIONE .....   | 59            |
| 2.5 CONCLUSIONI .....   | 61            |

|   |            |
|---|------------|
| <b>3. IL CONTRIBUTO DELLA FARMACOVIGILANZA.....</b>                   | <b>62</b>  |
| 3.1 CONSIDERAZIONI GENERALI.....                                      | 62         |
| 3.1.1 <i>La definizione di "segnale" in farmacovigilanza</i> .....    | 62         |
| 3.2 OBIETTIVO DELLO STUDIO.....                                       | 64         |
| 3.3 MATERIALI E METODI.....   | 64         |
| 3.3.1 <i>Estrazione delle segnalazioni di torsione di punta</i> ..... | 64         |
| 3.3.2 <i>Data mining delle segnalazioni spontanee</i> .....           | 65         |
| 3.3.3 <i>Considerazioni metodologiche</i> .....                       | 67         |
| 3.4 RISULTATI.....  | 72         |
| 3.5 DISCUSSIONE.....  | 77         |
| 3.6 CONCLUSIONI.....  | 81         |
| <br>  |            |
| <b>4. PERFEZIONAMENTO DEL SEGNALE.....</b>                            | <b>82</b>  |
| 4.1 OBIETTIVO DELLO STUDIO.....                                       | 82         |
| 4.2 MATERIALI E METODI.....   | 82         |
| 4.3 RISULTATI.....  | 84         |
| 4.3.1 <i>Analisi descrittiva</i> .....                                | 84         |
| 4.3.2 <i>Identificazione dei segnali</i> .....                        | 85         |
| 4.4 DISCUSSIONE.....  | 95         |
| 4.5 CONCLUSIONI.....  | 97         |
| <br>  |            |
| <b>5. COMMENTO FINALE E PROSPETTIVE.....</b>                          | <b>98</b>  |
| <br>  |            |
| <b>6. BIBLIOGRAFIA.....</b>   | <b>101</b> |

## Elenco delle pubblicazioni

Una parte dei dati presentati in questa tesi è stata oggetto delle seguenti pubblicazioni.

- Poluzzi E., Raschi E., Motola D., Moretti U., De Ponti F. **Antimicrobials and the risk of torsades de pointes: the contribution from data-mining of the FDA Adverse Event Reporting System.** Drug Saf 2010; in press.
- Raschi E., Vasina V., Ursino MG., Boriani G., Martoni A., De Ponti F. **Anticancer drugs and cardiotoxicity: insights and perspectives in the era of targeted therapy.** Pharmacol & Therap, 2010; 125(2): 196-218.
- Raschi E., Ceccarini L., De Ponti F., Recanatini M. **hERG-related drug toxicity and models for predicting hERG liability and QT prolongation.** Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2009; 5(9): 1005-1021.
- Poluzzi E., Raschi E., Moretti U., De Ponti F. **Drug-induced torsades de pointes: data mining of the public version of the FDA Adverse Event Reporting System (AERS).** Pharmacoepidemiol Drug Saf, 2009; 18(6): 512-518.
- Raschi E., Poluzzi E., Zuliani C., Muller A., Goossens H., De Ponti F. **Exposure to antibacterials with QT-liability in 14 European countries: trends over an 8-year period.** Br J Clin Pharmacol, 2009; 67(1): 88-98.
- Raschi E., Vasina V., Poluzzi E., De Ponti F. **The hERG K<sup>+</sup> channel: target and antitarget strategies in drug development.** Pharmacol Res, 2008; 57(3): 181-195.

## **SUMMARY**

Drug-induced torsades de pointes (TdP) associated with QT prolongation represents a matter of concern both for basic researchers and physicians. Currently, an integrated and multidimensional approach represents the best strategy for a correct risk-benefit assessment, not only during the drug development process, but also for already marketed drugs. Although TdP is usually a self-limiting arrhythmia, under certain circumstances, it may degenerate into ventricular fibrillation and sudden cardiac death. Thus, even a low risk is not justified for drugs with uncertain benefits, providing only symptomatic improvement of a mild disease or whenever safer therapeutic analogues are available.

The aim of this thesis was to critically evaluate the risk of TdP associated with antibacterials using a pharmaco-epidemiological approach. This therapeutic class was chosen taking into account the impact and relevant implications deriving from proper use. Unfortunately, antibiotics are frequently abused or overused, thus several national and international authorities have recently implemented campaigns to promote awareness and appropriate prescription.

In the first part of the thesis (Chapter 1. Introduction), pharmacological and regulatory aspects of drug-induced TdP will be overviewed. The need for a multidimensional strategy in the process of risk assessment will be especially emphasized. Comprehension of molecular mechanisms and complexity of factors subtending TdP is of primary importance to appreciate the rational basis of this research.

In the second part of the thesis (Chapter 2. The magnitude of the problem), the impact of TdP in the general population will be studied by analyzing antibacterial exposure. Public literature has been collected, evaluated and classified on the basis of previous criteria, with the aim of creating a list of antibacterial drugs with a risk of TdP. Drug-utilization

study has been performed to evaluate drug consumption over an 8-year period (1998-2005) in 14 European Countries that were enrolled in the ESAC (European Surveillance of Antibacterial Consumption) project.

In the third part of the thesis (Chapter 3. The contribution of pharmacovigilance), international databases of spontaneous reports have been analyzed to test whether a significant consumption would reflect into significant number of TdP reports. Because the FDA Adverse Event Reporting System (AERS) is publicly accessible and is considered the largest source of pharmacovigilance data, it was used to identify spontaneous reports of TdP. We test the feasibility of an already validated method (the case/non case methodology) to early detect signals of TdP that deserve further investigation.

In the fourth part of the thesis (Chapter 4. Signal refinement), the therapeutic class of anti-infectives has been focused and thoroughly investigated. A qualitative approach has been proposed to individually analyze spontaneous reports of TdP. Notably, this strategy has been integrated with the quantitative approach (case/non case method) in order to detect signals of TdP that have been discussed on the basis of current knowledge.

In the final part of the thesis (General comment and perspectives), main results will be overviewed emphasizing potential implications and long-term perspectives of the project. Implementation of this research is mandatory, but certainly this pharmaco-epidemiological research represents the basis to refine integrated strategies of risk assessment and actually delineate the cardiac safety profile of each antibacterial agents.

## **What is already known about this subject**

- 1.** Torsades de pointes (TdP) is a potentially fatal event caused by several drugs (some used as antiarrhythmics some for non-cardiovascular indications), which block hERG K<sup>+</sup> channels.
- 2.** During the last decade, a number of regulatory measures have regarded medicinal products carrying this pro-arrhythmic risk in humans (TdP liability).
- 3.** Previous epidemiological studies showed significant exposure of the general population to drugs, with TdP liability, with similar consumption pattern in several European countries.

## **What this study adds**

- 1.** A structured analysis of the existing literature documente TdP liability for several antibacterial agents.
- 2.** Notwithstanding stringent regulatory measures taken over the past few years on these agents, population exposure to antibacterials with TdP-liability is still significant in several countries.
- 3.** The magnitude of the problem is heterogeneous with remarkable diversity between Northern and Southern European countries (lower and higher exposure, respectively).
- 4.** Data mining of the largest pharmacovigilance database (FDA\_AERS) identified several antimicrobial agents with suspected TdP liability (i.e. signals) that deserve further investigations: linezolid, caspofungin, posaconazole, indinavir and nelfinavir.

## **SOMMARIO**

La Torsione di Punta (TdP) conseguente al prolungamento dell'intervallo QT dell'elettrocardiogramma è una delle reazioni avverse a farmaci di maggior interesse nel campo della ricerca clinica e di base. Un approccio multidimensionale volto ad integrare le diverse competenze è oramai riconosciuto e condiviso a livello internazionale per una corretta valutazione del rischio, sia per le molecole in fase di sviluppo che per i farmaci già in commercio. Nonostante la TdP sia in gene un fenomeno autolimitantesi, in talune circostanze, essa può sfociare in fibrillazione ventricolare e conseguente morte cardiaca improvvisa. Pertanto, anche un medicinale che abbia un rischio estremamente basso può non essere accettabile qualora i suoi benefici non siano ben studiati o esistano alternative terapeutiche più sicure.

Considerate le premesse, il progetto di ricerca presentato in questa tesi si è prefisso l'obiettivo di valutare criticamente, tramite un approccio farmaco-epidemiologico, le dimensioni ed il rischio di TdP da farmaci antibatterici. La scelta di questa classe terapeutica nasce dalla rilevanza e dalle implicazioni pratiche di una classe farmacologica da tempo nota per un utilizzo non sempre corretto, sia a livello nazionale che internazionale. Recentemente l'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) ha intrapreso una campagna di sensibilizzazione all'uso consapevole e razionale degli antibiotici. Inoltre, anche a livello Europeo, attività di sorveglianza e campagne mediatiche hanno raggiunto ampia diffusione.

Nella prima parte della tesi (Capitolo 1. Introduzione), verranno descritti gli aspetti farmacologici e regolatori della TdP indotta da farmaci, delineando l'importanza di una strategia multidisciplinare nella valutazione globale del rischio. La comprensione dei meccanismi molecolari e della complessità di fattori che entrano in gioco nella genesi della TdP sono di

fondamentale importanza per comprendere il razionale scientifico alla base del percorso di ricerca.

Nella seconda parte della tesi (Capitolo 2. Le dimensioni del problema), verrà approfondito l'impatto della TdP nella popolazione generale, analizzando l'esposizione a farmaci antibatterici. La letteratura scientifica è stata raccolta, analizzata e strutturata sulla base di criteri predefiniti che hanno portato a stilare un elenco di composti a rischio. Tali farmaci sono stati successivamente oggetto di indagini di farmaco-utilizzazione, tramite l'impiego di metodiche *ad hoc* per confrontare il trend temporale nei consumi tra popolazioni numericamente differenti. Più precisamente, è stata analizzata la finestra temporale 1998-2005 in 14 paesi dell'Unione Europea partecipanti al progetto ESAC (European Surveillance of Antibacterial Consumption).

Nella terza parte della tesi (Capitolo 3. Il contributo della farmacovigilanza), sono state analizzate le banche-dati internazionali contenenti segnalazioni spontanee di reazioni avverse a farmaci. Come fonte di informazioni è stato scelto il database dell'Agenzia Regolatoria Americana Food and Drug Administration (FDA). Tale archivio, noto come Adverse Event Reporting System (AERS), è pubblicamente accessibile e rappresenta, nel campo della farmacovigilanza, la fonte più ampia oggi disponibile. Inizialmente, è stata saggiata l'applicabilità alla banca-dati AERS di un metodo già validato in letteratura: il metodo caso/non-caso. Tale metodica ha consentito di identificare, da un punto di vista quantitativo, alcuni segnali precoci di rischio che devono necessariamente essere approfonditi ampliando la casistica ed i metodi di analisi.

Una volta verificata l'applicabilità del metodo, nella quarta parte della tesi (Capitolo 4. Perfezionamento del segnale) ho focalizzato l'attenzione sulla classe farmacologica degli anti-infettivi. Per migliorare l'identificazione del segnale, è stato proposto un metodo qualitativo per

l'analisi delle singole segnalazioni spontanee. L'integrazione dei due metodi ha portato a definire diversi segnali che sono stati discussi sulla base delle evidenze scientifiche disponibili.

Nella parte conclusiva della tesi (Commento finale e prospettive), verranno sommariamente ripercorsi i principali risultati, discutendo le implicazioni e le prospettive a lungo termine del progetto di ricerca. L'approccio intrapreso e descritto nella tesi rappresenta, a sua volta, il punto di partenza per sviluppare modelli integrati di valutazione del rischio definendo, in ultima istanza, il profilo di sicurezza cardiaca dei diversi farmaci antibatterici.

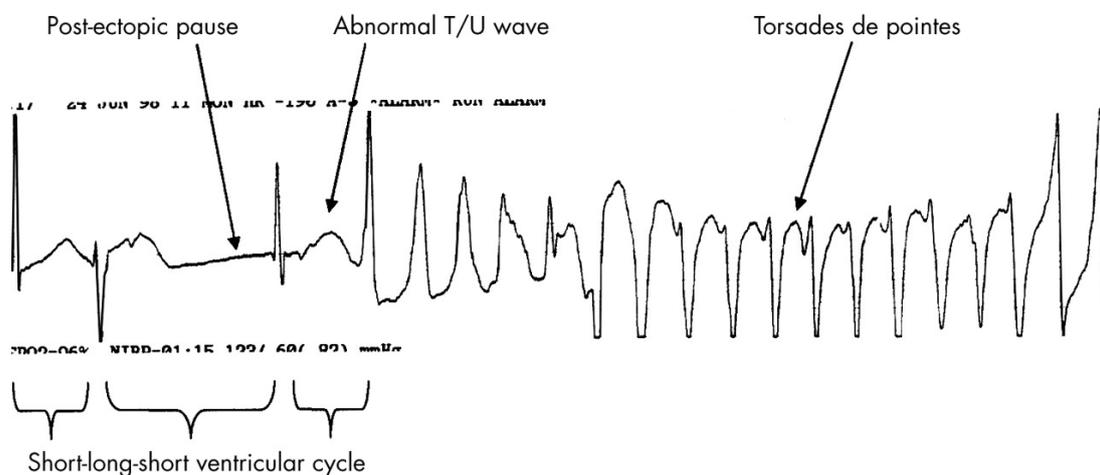
# 1. INTRODUZIONE

## 1.1 Generalità

Il fenomeno delle aritmie ventricolari indotta da farmaci rappresenta tuttora un argomento di estremo interesse e preoccupazione per ricercatori, medici, industrie farmaceutiche ed Agenzie Regolatorie. Tra queste, la Torsione di Punta (TdP) associata al prolungamento dell'intervallo QT dell'elettrocardiogramma rappresenta senza dubbio una delle reazioni avverse di maggior interesse nel campo della ricerca clinica e di base [1]. Il termine TdP è stato coniato nel 1966 da Dessertenne per descrivere una forma peculiare di tachicardia polimorfa ventricolare insorta in una donna dopo somministrazione di chinidina e caratterizzata da tipici rilievi elettrocardiografici: inversioni continue, battito dopo battito, dell'asse del QRS attorno alla linea isoelettrica [2]. Tale morfologia, sebbene caratteristica, non necessariamente si rende palese in tutte le derivazioni dell'elettrocardiogramma. Tipicamente, gli episodi di TdP indotta da farmaci sono preceduti da una sequenza definita "short-long-short pattern" e caratterizzata da un complesso ventricolare prematuro (CVP) seguito da una pausa compensatoria e da un ulteriore CVP che si evidenzia a ridosso dell'onda T (spesso deformata o distorta). La TdP da farmaci pertanto si accompagna ad un prolungamento dell'intervallo QT dell'elettrocardiogramma di superficie [3, 4] (**figura 1**). Analogamente ad altre tachicardie ventricolari, la TdP è generalmente autolimitantesi, ma può persistere e degenerare in fibrillazione ventricolare e morte cardiaca improvvisa. Negli ultimi quindici anni, l'elenco di farmaci in grado di causare un prolungamento dell'intervallo QT e predisporre pertanto alla TdP si è arricchito in misura considerevole, tanto da destare un certo allarme tra i medici prescrittori (**tabella 1**). Pertanto, è importante che il clinico sappia discernere quali, tra i farmaci appartenenti alla medesima classe terapeutica,

presentino un rischio minore di aritmia. A tale scopo, oltre alle schede tecniche dei medicinali (recentemente oggetto di revisione), può essere utile consultare siti internet *ad hoc*, come quello curato dalla Arizona Center of Education and Research on Therapeutics (CERT) (<http://www.azcert.org>).

**Figura 1.** Tipico tracciato elettrocardiografico della TdP indotta da farmaci. Tratto da Yap & Camm, Heart 2003;89:1363-1372 [3].



**Tabella 1.** Elenco delle principali classi terapeutiche associate ad insorgenza di TdP.

| <b>Classe Terapeutica</b> | <b>Principio attivo (esempi)*</b>  |
|---------------------------|--|
| Antiarritmici             | Amiodarone, dofetilide, disopiramide, flecainide, idutilide, sotalolo  |
| Antibatterici             | Azitromicina, claritromicina, telitromicina, gatifloxacina, levofloxacina, moxifloxacina, sparfloxacina, cotrimoxazolo |
| Antimalarici              | Alofantrina, cloroquina  |
| Antiprotozoari            | Pentamidina  |
| Antifungini               | Fluconazolo, ketoconazolo, voriconazolo  |
| Antipsicotici             | Aloperidolo, clozapina, quetiapina, risperidone, sertindolo, ziprasidone   |
| Antidepressivi            | Amitriptilina, citalopram, fluoxetina, imipramina, paroxetina, venlafaxina   |
| Antistaminici             | Astemizolo, terfenadina  |
| Procinetici               | Cisapride  |
| Antitumorali              | Arsenico triossido, lapatinib, nilotinib, sunitinib  |
| Immunosoppressori         | Tacrolimus   |
| Antiangina                | Bepiridil, ranolazina  |
| Antiemetici               | Domperidone, ondansetron, dolasetron   |
| Antidislipemici           | Producol   |
| Anti-HIV                  | Atazanavir   |
| Antivirale                | Amantadina, foscarnet  |
| Anticonvulsivanti         | Felbamato, fosfenitoina  |
| Antipertensivi            | Alfuzosin, nicardipina, indapamide   |
| Antimaniacali             | Litio  |
| Analgesici oppioidi       | Metadone   |

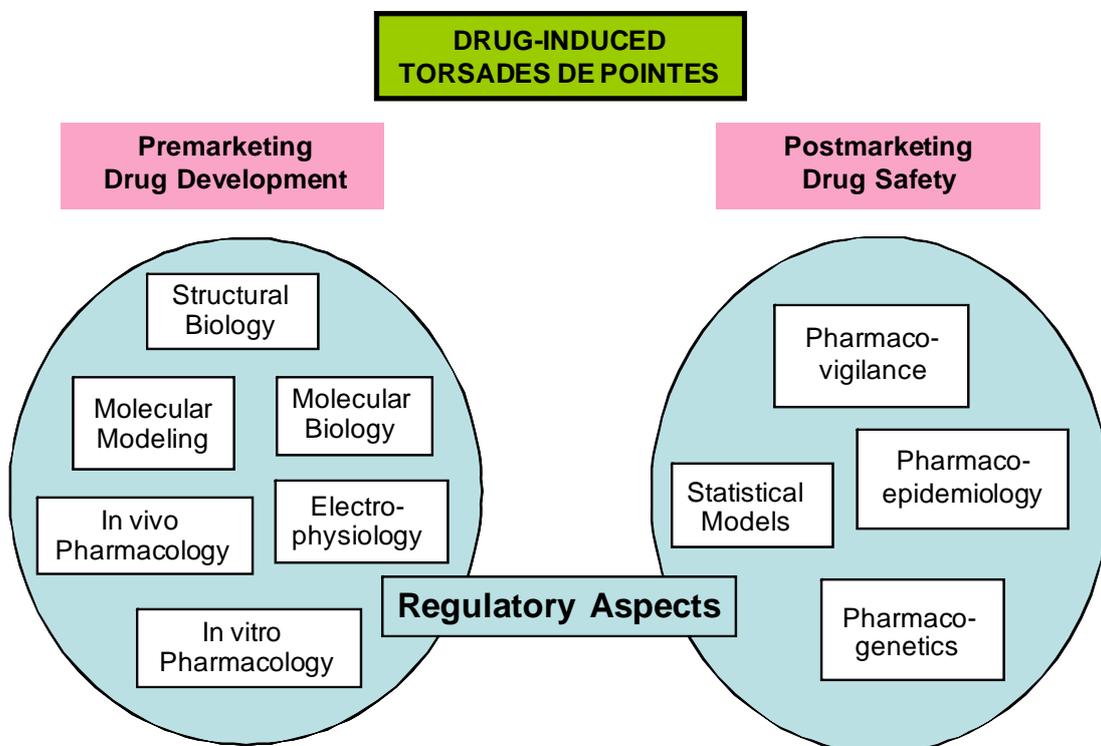
\* Sulla base delle informazioni reperibili sul sito web <http://www.azcert.org>, ultimo accesso 3-3-2010. Alcuni principi attivi come sparfloxacina sono stati ritirati dal commercio ma riportati per completezza.

## 1.2 Motivi di Interesse

L'interesse e la preoccupazione sempre crescenti nei confronti della TdP indotta da farmaci sono da ricondurre ad una serie di motivazioni:

**1. La dimensione multidisciplinare del problema:** dalla modellistica molecolare agli studi di farmacovigilanza post-marketing, passando attraverso le indagini genetiche e gli aspetti regolatori [5]. Uno schema di questo ipotetico network è proposto in **figura 2**. L'obiettivo comune di tale approccio "integrato" consiste nell'identificazione precoce di un rischio, quello della TdP indotta da farmaci, estremamente raro (1-2/100.000) [6], ma non accettabile qualora i benefici non siano ben studiati o esistano alternative terapeutiche più sicure.

**Figura 2.** Approccio multidisciplinare per l'identificazione precoce del rischio di TdP da farmaci.



**2. L'esigenza di definire un effetto di classe o di molecola.** Da un punto di vista farmacologico, la TdP è un evento avverso comune a diverse classi di farmaci, anche non cardiovascolari, tra cui numerosi antibatterici (fluorochinoloni o macrolidi): la prima esigenza è dunque quella di definire se il fenomeno sia classificabile come un effetto di classe o di molecola [7].

**3. La notevole rilevanza sul territorio.** E' stato stimato che il 2-3% di tutti i farmaci prescritti nel Regno Unito ed in Italia possano potenzialmente prolungare l'intervallo QT dell'elettrocardiogramma e dunque predisporre all'insorgenza di tale aritmia [8]. Inoltre, uno studio internazionale di farmaco-utilizzazione ha evidenziato un consumo significativo di farmaci non antiaritmici a rischio di prolungamento del QT [9].

**4. Le implicazioni pratiche per la prescrizione medica.** Il rischio cardiovascolare del singolo paziente e del farmaco devono essere sempre considerati congiuntamente e discussi quando si prescrive un medicinale potenzialmente pro-aritmico (**tabella 2**).

**5. Gli interventi regolatori.** Nell'ultimo decennio sono stati assunti diversi provvedimenti restrittivi all'uso di farmaci legati a questo rischio, che in alcuni casi hanno coinciso con il ritiro del farmaco stesso dal commercio (**tabella 3**). Una recente revisione ha concluso che il prolungamento dell'intervallo QT (associato o meno a TdP) insieme alla tossicità epatica indotti da farmaci hanno causato oltre il 60% dei ritiri dal commercio nel corso degli ultimi 16 anni [10]. L'interesse (ed in un certo senso la preoccupazione) da parte di medici, ditte farmaceutiche, personale coinvolto in campo regolatorio o sviluppo di farmaci e, non da ultimo, le istituzioni accademiche è confermato dal continuo incremento nel numero delle segnalazioni di reazioni avverse

**Tabella 2.** Fattori di rischio per l'insorgenza di TdP.

---

### **Legati al paziente**

---

- Sindrome congenita del QT lungo
- QTc > 440 ms nei soggetti di sesso maschile; QTc > 460 ms nei soggetti di sesso femminile (rischio elevato se QTc > 500 ms).
- Sesso femminile (2/3 dei casi di TdP indotta da farmaci interessa le donne).
- Bradicardia clinicamente significativa (<50 battiti al minuto).
- Storia di aritmie sintomatiche o di altre malattie cardiache clinicamente rilevanti (ipertrofia miocardia, scompenso cardiaco).
- Bilancio elettrolitico alterato (specialmente ipokaliemia, ipomagnesiemia, ipocalcemia).
- Alterate funzioni renale o epatica (possono portare ad una riduzione della clearance di alcuni farmaci).
- Patologie endocrino-metaboliche: ipotiroidismo, diabete mellito.

---

### **Legati al farmaco**

---

Somministrazione di un farmaco che interferisce sull'intervallo QT durante trattamento concomitante con farmaci di cui è noto il rischio di:

- interazioni farmacodinamiche: ad es. antiaritmici di classe I e III; farmaci che alterano bilancio elettrolitico, ad es. inducendo ipokaliemia (come diuretici, agonisti beta-adrenergici, insulina, amfotericina B);
  - interazioni farmacocinetiche con inibitori degli isoenzimi farmaco-metabolizzanti CYP3A4 (es. eritromicina, ketoconazolo, succo pompelmo) o CYP2D6 (ad es. tioridazina);
  - interazioni miste farmacocinetiche-farmacodinamiche (si noti che chinidina, alofantrina e tioridazina sono inibitori del CYP2D6, ma sono anche in grado bloccare i canali del potassio HERG).
-

**Tabella 3.** Esempi di interventi regolatori legati alla TdP.

| <b>Farmaco</b>    | <b>USA</b>   | <b>Europa</b>   |
|-------------------|--|---|
| terodilina        | –  | ritiro a seguito di segnalazioni di torsioni di punta (1991)  |
| terfenadina       | proposta di ritiro (gennaio 1997)<br>aggiunte di avvertenze in scheda tecnica (settembre 1997)<br>ritiro dopo l'autorizzazione al commercio della fexofenadina (dicembre 1997) | ritiro della confezione da 120 mg dal mercato europeo (novembre 1997)<br>mantenimento in commercio delle confezioni da 60 mg e 30 mg in compresse e della sospensione orale da 6mg/ml (febbraio 1998) |
| sertindolo        | raccomandato per l'inserimento in commercio (1996), mai autorizzato  | ritirato precauzionalmente dal mercato europeo, in attesa di un giudizio da parte della EMA (1998)  |
| astemizolo        | ritirato dalla Ditta produttrice (1999)  | ritirato dalla Ditta produttrice (1999)   |
| grepafloxacina    | ritirato dalla Ditta produttrice (1999)  | ritirato dalla Ditta produttrice (1999)   |
| cisapride         | aggiunte di avvertenze in scheda tecnica (1998)<br>ritirato (2000)   | aggiunte di avvertenze in scheda tecnica (1998)<br>ritirato in alcuni paesi, disponibile solo per indicazioni ristrette in altri (2000)   |
| levacetilmetadolo | aggiunte di avvertenze in scheda tecnica (2001)  | ritirato (2001)   |

## 1.3 Aspetti Farmacologici

### 1.3.1 Il ruolo del canale K<sup>+</sup> hERG

Benché diversi meccanismi fisiopatologici possano portare a una sindrome del QT lungo da farmaci, il meccanismo principale e di gran lunga più importante è il blocco dei canali del potassio K<sub>v</sub>11.1, meglio noti come canali K<sup>+</sup> hERG (*human ether-a-go-go-related gene*) [12]. Infatti, praticamente tutti i farmaci che prolungano l'intervallo QT e possono provocare TdP sono anche in grado di bloccare questo particolare tipo di canale [13-15]. Va subito chiarito che i canali K<sup>+</sup> hERG sono lo specifico bersaglio (*target*) farmacologico degli antiaritmici di classe III, come sotalolo, dei quali è ben nota la capacità di esercitare un'azione antiaritmica proprio grazie ad un prolungamento del periodo refrattario (che comporta una riduzione dei fenomeni di rientro) associata, tuttavia, ad un prolungamento della durata della ripolarizzazione ventricolare (che comporta un rischio pro-aritmico). A causa delle eterogenee localizzazioni di hERG, si sta diffondendo notevole interesse in campo clinico e sperimentale nell'indagare nuovi ipotetici scenari soprattutto in campo cardiologico ed oncologico (**tabella 4**) [16-18]. Negli ultimi quindici anni si è chiarito che il target degli antiaritmici di classe III, il canale K<sup>+</sup> hERG, rappresenta anche, in realtà, un importante *antitarget* (cioè un sito responsabile di reazioni avverse a farmaci) per molte classi di farmaci che bloccano questi canali a concentrazioni non lontane da quelle terapeutiche [17].

**Tabella 4.** Localizzazioni di hERG e possibili implicazioni terapeutiche.

| Localizzazione/<br>espressione | Funzione/ patofisiologia  | Target<br>(effetto terapeutico)  | Antitarget<br>(effetto avverso)  |
|--------------------------------|---|--|--|
| <i>Miocardio</i>               | <p>Potenziale d'azione cardiaco.</p> <p>Canalopatie:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- mutazioni <i>loss-of-function</i> di hERG sono responsabili di alcune forme congenite di sindrome del QT lungo;</li> <li>- mutazioni <i>gain-of-function</i> di hERG causano la sindrome del QT corto.</li> </ul> | <p>Gli antiaritmici di classe III bloccano hERG riducendo i fenomeni di rientro; possono inoltre rappresentare una seconda scelta nella terapia della sindrome del QT corto.</p> <p>Gli antiaritmici di classe I potrebbero diventare una plausibile alternative alla cardioversione in pazienti con sindrome del QT corto.</p> <p>Gli attivatori di hERG abbreviano l'intervallo QT, un effetto teoricamente desiderabile in pazienti con canalopatie causate da mutazioni <i>loss-of-function</i> di hERG.</p> | <p>Numerosi farmaci non-cardiovascolari bloccano hERG e prolungano l'intervallo QT, predisponendo al rischio di TdP.</p> |
| <i>Neuroni</i>                 | <p>Numerose funzioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- potenziale di membrane a riposo;</li> <li>- genesi neuronale;</li> <li>- adattamento "spike frequency".</li> </ul>   | <p>Farmaci antiepilettici?</p> <p>Farmaci antipsicotici?</p>   | <p>Effetti avversi dei bloccanti di hERG a livello del sistema nervoso centrale?</p>                                     |

## Continuazione

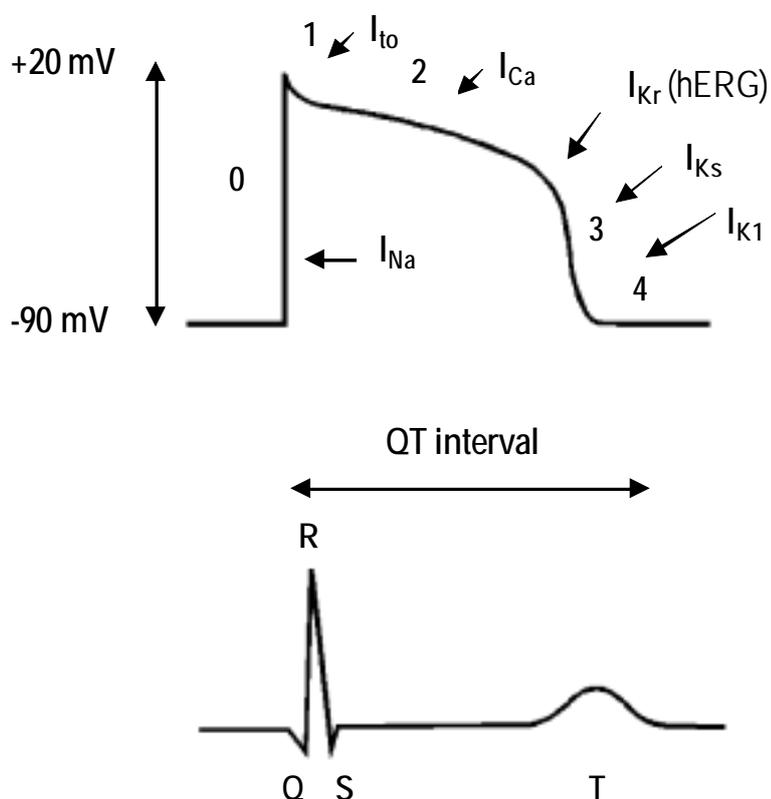
|  |   |   |   |
|--|---|---|---|
| <i>Tumori</i>  | Proprietà delle cellule tumorali (perdita dell'inibizione da contatto).   | Bloccanti/attivatori di hERG sono stati proposti come: <ul style="list-style-type: none"><li>- potenziali agenti terapeutici;</li><li>- potenziali <i>marker</i> diagnostici (screening);</li><li>- potenziali <i>marker</i> prognostici.</li></ul> | Effetti avversi sulla proliferazione cellulare dei bloccanti di hERG se usati come antiaritmici?  |
| <i>Intestino</i><br><br>- <i>muscolo liscio</i><br><br>- <i>cellule interstiziali di Cajal</i> | Motilità ed attività pacemaker.   | Bloccanti di hERG per ristabilire la peristalsi?  | I potenziali effetti avversi dei bloccanti di hERG al momento precludono lo sviluppo di indicazioni gastrointestinali:<br><br>- spasmo intestinale? |
| <i>Cellule <math>\beta</math> del pancreas</i>   | Regolazione della secrezione di insulina.   | Trattamento dei disordini iperinsulinemici (es. Insulinoma) causati da mutazioni di hERG?   | Bloccanti di hERG possono causare stati di iperinsulinemia.   |
| <i>Cellule cromaffini</i>  | Modulazione rilascio di adrenalina.<br><br>Morte cardiaca improvvisa (pazienti con sindrome del QT lungo di tipo II)? | Modulazione pressione sanguigna?  |   |

Il canale  $K^+$  hERG presenta una struttura tetramericata formata dall'assemblaggio di quattro subunità  $\alpha$ , ciascuna composta da sei domini  $\alpha$ -elica trans-membrana (descritti come S1-S6), con il dominio S4 contenente sei cariche positive (tipico dei canali  $K^+$  voltaggio-dipendenti) e definito come il "sensore di voltaggio" poiché sensibile ai cambiamenti del potenziale di membrana [19]. A differenza di altri canali del potassio, hERG presenta delle proprietà morfologiche, cinetiche e funzionali uniche [20, 21]. Dal punto di vista strutturale, l'assenza di due specifici residui di prolina nel dominio S6 (che in condizioni normali limitano il volume della cavità interna) e la presenza di due residui aromatici (Y652 and F656) facilitano l'interazione con numerosi farmaci e consentono l'accesso a grandi molecole come, ad esempio, antibatterici appartenenti alla classe dei macrolidi. Dal punto di vista funzionale, hERG può assumere tre diverse conformazioni a seconda del potenziale di membrana: chiuso (potenziale negativo), aperto ed inattivato. La cinetica inusuale di inattivazione e riattivazione facilita l'intrappolamento dei farmaci e contribuisce alla promiscuità del canale. La scarsa selettività è dimostrata dal fatto che numerose sostanze contenute negli alimenti come flavonoidi, acido arachidonico e docosaesaenoico possono bloccare i canali  $K^+$  hERG [22-25]. Inoltre, la regione di legame non necessariamente risiede nella cavità interna, come testimoniato da alcune tossine peptidiche [BeKm-1, CnErg1 (anche chiamata ErgTx1) prodotte dallo scorpione e APETx1 dall'Anemone di mare] che interagiscono legandosi alla porzione vestibolare esterna [26-30].

Il blocco dei canali  $K^+$  hERG causa un'inibizione della componente rapida della corrente ripolarizzante tardiva del potassio ( $I_{Kr}$ ) che si traduce in un ritardo della ripolarizzazione ventricolare e conseguente prolungamento del potenziale d'azione cardiaco [31]. Dato che l'intervallo QT (misurato dall'inizio dell'onda Q alla fine dell'onda T sull'elettrocardiogramma di superficie) riflette la durata dei singoli potenziali di azione nei miociti cardiaci,

un prolungamento del potenziale d'azione cardiaco si tradurrà in un prolungamento dell'intervallo QT (**figura 3**).

**Figura 3.** Riquadro superiore: rappresentazione schematica del potenziale d'azione e delle correnti depolarizzanti ( $I_{Na}$  ed  $I_{Ca}$ ) e ripolarizzanti ( $I_{to}$ ,  $I_{Kr}$ ,  $I_{Ks}$  ed  $I_{K1}$ ) a livello dei miociti ventricolari. Riquadro inferiore: i gradienti elettrici del miocardico possono essere apprezzati visivamente a livello dell'elettrocardiogramma di superficie (esempio illustrativo dell'intervallo QT, misurato dall'inizio dell'onda Q alla fine dell'onda T) [5].



Il blocco dei canali  $K^+$  hERG, tuttavia, non rappresenta l'unico meccanismo di prolungamento dell'intervallo QT e TdP da farmaci [32]. Esistono numerosi esempi descritti in letteratura di farmaci in grado di inibire i canali  $K^+$  hERG ma scarsamente propensi a scatenare aritmia a causa delle proprietà farmacologiche aggiuntive che in qualche modo possono controbilanciare

l'effetto pro-aritmico. Due esempi significativi sono amiodarone e verapamil [33], quest'ultimo noto come "falso positivo" nei test pre-clinici di *safety* cardiaca [34, 35]. Anche gli antidepressivi sono molecole con azioni farmacologiche complesse sui canali  $K^+$ ,  $Na^+$  e  $Ca^{++}$  con effetti *in vivo* variabili sull'intervallo QT a seconda della specie esaminata [36]. Pertanto è importante, all'interno di ciascuna classe terapeutica, valutare lo spettro farmacologico completo per identificare le molecole con reale potenziale pro-aritmico. Gli antiaritmici di classe I [37] e gli anestetici locali [38] ed alfuzosin [39] sono rari esempi di farmaci in grado di causare un ritardo nella ripolarizzazione ventricolare interferendo con la corrente del sodio  $Na^+$ . A completare (e complicare) il quadro, recenti studi hanno dimostrato come le proprietà pro-aritmiche degli anestetici si possano attribuire, almeno in parte, ad una azione sui canali  $K^+$  hERG [40]. La cocaina rappresenta un ulteriore esempio di farmaco con un profilo farmacologico complesso (azione anestetica locale e blocco dei canali  $K^+$  hERG) [41-43]. Va ricordato che, almeno a livello teorico, modificazioni interessanti altre correnti del potassio possono causare un prolungamento del potenziale d'azione cardiaco e predisporre ad aritmia [44]. Tra queste meritano particolare attenzione la componente lenta della corrente ritardata rettificatrice del potassio ( $I_{Ks}$ ), la corrente transitoria in uscita ( $I_{to}$ ) e quella rettificatrice in entrata ( $I_{K1}$ ) [45-47]. In particolar modo, il blocco di  $I_{Ks}$  è stato recentemente proposto come importante meccanismo nell'insorgenza di TdP [48].

Recenti acquisizioni hanno inoltre dimostrato come numerosi composti siano in grado di interferire con il processo di maturazione e di trasporto del canale  $K^+$  hERG ("trafficking") verso la superficie di membrana [49]. Per citare alcuni esempi, pentamidina [50, 51], arsenico triossido [52, 53], glicosidi cardiaci [54] e probucol [55] interferiscono esclusivamente con il processo di *trafficking*, mentre ketoconazolo [56], fluoxetina [57] e norfluoxetina [58] sono altresì in grado di inibire la corrente  $I_{Kr}$ . Le

implicazioni sono evidenti e rilevanti se si considera che farmaci saggiati come negativi nei test pre-clinici circa il blocco di  $K^+$  hERG possono tuttavia presentare un rischio non trascurabile di TdP [59].

Riassumendo, considerare il blocco dei canali  $K^+$  hERG come unico meccanismo di prolungamento dell'intervallo QT e TdP da farmaci non solo è semplicistico ma persino fuorviante, soprattutto alla luce della complessa relazione tra entità del prolungamento del QT ed insorgenza di aritmia (vedi paragrafo sottostante)

### **1.3.2 Prolungamento dell'intervallo QT ed insorgenza di torsione di punta: un marker surrogato di cardio-tossicità**

Va sottolineato che, sebbene sia impiegato come indice di potenziale tossicità cardiaca (la cosiddetta *QT liability*), il prolungamento dell'intervallo QT è pur sempre un *marker surrogato* in quanto l'incidenza di TdP non è utilizzabile (sia per motivi etici che per la rarità della reazione avversa) e non vi è consenso su quale sia l'entità del prolungamento che implica un significativo rischio clinico. Tuttavia, ai fini regolatori, è sufficiente un incremento di 5-10 ms rispetto al valore basale per destare preoccupazione nel corso di sviluppo di un farmaco. Nonostante, in linea di massima, il rischio di sviluppare TdP sia proporzionale all'entità del prolungamento (un  $QT_c > 500$  ms indica un rischio piuttosto evidente [60]), l'effettivo manifestarsi dell'aritmia dipende spesso dalla concomitanza di altri fattori di rischio, che vanno attentamente considerati nella loro globalità (**tabella 2**). In letteratura, sono riportati casi di TdP in pazienti con un intervallo QT apparentemente normale [61].

Va inoltre segnalato che non esistono standard internazionali persino nella misurazione dell'intervallo QT. Molti ricercatori hanno sollevato perplessità sulle varie metodiche impiegate per una corretta misurazione. L'intervallo QT, infatti, è soggetto a variazioni continue e fisiologiche a seconda dei diversi

fattori che entrano in gioco come la frequenza cardiaca, l'attività del sistema nervoso autonomo, il sesso, l'età, variazioni genetiche dei canali ionici coinvolti nella ripolarizzazione cardiaca [62]. In aggiunta, sono state descritte variazioni circadiane e stagionali [63, 64]. La variabile che influenza maggiormente la durata dell'intervallo QT è la lunghezza del ciclo cardiaco (intervallo RR): tanto maggiore è l'intervallo RR tanto maggiore risulta l'intervallo QT e viceversa [65]. Pertanto, sono state proposte numerose formule per "correggere" (o meglio normalizzare) l'intervallo QT per la frequenza cardiaca ed ottenere il QTc (QT corretto) [33, 66]. Le più utilizzate sono le formule di Bazett ( $QTc = QT/RR^{1/2}$ ) e di Fredericia ( $QTc = QT/RR^{1/3}$ ). Tuttavia, anche queste formule non sono scevre di errori: quella di Bazett tende ad ipercorreggere per frequenze cardiache elevate ed a sottostimare il QT a frequenze ridotte [67, 68]. Un incremento dell'intervallo QT valutato con la formula di Bazett può pertanto dipendere da errori nella misurazione, come dimostrato per l'ebastina [68]. L'individuazione della formula più corretta non dovrebbe prescindere dalla valutazione preliminare della relazione QT/RR nella popolazione in studio. Malik [68] ha tentato di ottenere una formula "personalizzata", utilizzando i dati del singolo paziente tramite l'equazione generica  $QTc=QT/RR^\alpha$ , dove  $\alpha$  è un valore variabile tra 0.161 e 0.417, a seconda del soggetto in esame. Va sottolineato che la relazione QT/RR presenta una spiccata variabilità inter-individuale ma una relativa variabilità intra-individuale [69], da cui la necessità di misurare tale relazione in ciascun soggetto, in particolar modo durante gli studi di fase I/II [70]. Attualmente, numerosi studi stanno valutando l'adattamento dell'intervallo QT alle modificazioni rapide della frequenza cardiaca (la cosiddetta "QT/RR hysteresis") [71], suggerendo una nuova possibile applicazione a supporto dei tradizionali metodi di correzione dell'intervallo QT [72]. In prospettiva regolatoria, è importante avere a disposizione una o più formule di correzione (magari anche sofisticate come quella proposta da Malik) per

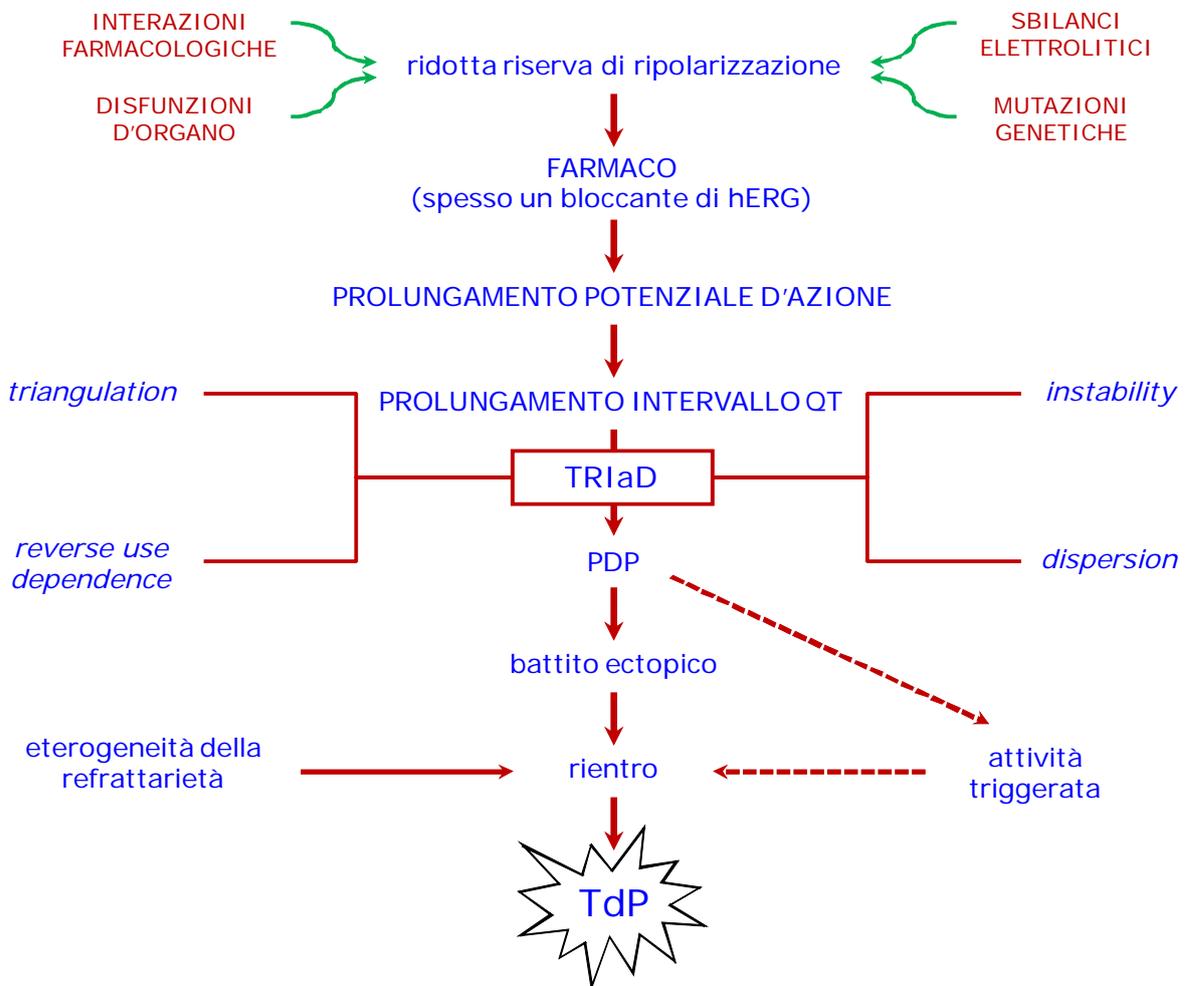
definire con accuratezza la rilevanza dell'effetto elettrocardiografico del farmaco in studio nelle fasi cliniche precoci di sviluppo pre-marketing. D'altra parte, è necessario comunque disporre di una formula semplice e facilmente interpretabile nella pratica clinica quotidiana. In queste circostanze, è più importante conoscere i limiti delle formule di correzione piuttosto che applicare il maggior numero di formule [68, 73, 74].

I meccanismi che portano all'insorgenza di TdP sono stati oggetto di numerose ricerche ma non sono totalmente chiariti (**figura 4**). Recenti studi di elettrofisiologia hanno consentito di definire in dettaglio le dinamiche intracellulari che traducono il mero prolungamento del potenziale d'azione cardiaco in TdP. Il concetto del "TRIaD" (*Triangulation, Reverse use-dependence, Instability and Dispersion of repolarisation*) è oramai riconosciuto come substrato e requisito imprescindibile nella genesi della TdP [75]. Hondeghem ed i suoi collaboratori, utilizzando un particolare modello *in vitro* (il cosiddetto sistema SCREENIT), hanno dimostrato come solamente quei farmaci in grado di causare tali modificazioni elettrofisiologiche esibivano effettivamente un potenziale pro-aritmico [76]. La *instability* è un indice della variabilità del potenziale d'azione cardiaco e viene definita sulla base del potenziale d'azione cardiaco espresso al 60%. Viene elegantemente visualizzata creando una rappresentazione grafica tramite i *Poincaré plots*: l'acido acetilsalicilico (farmaco non torsadogenico) non modifica il potenziale d'azione al 60% e pertanto non mostra un comportamento caotico nel *plot* a differenza dell'aloiperidolo (farmaco torsadogenico). La *triangulation* è un indice della durata della fase 3 della ripolarizzazione e rappresenta la differenza (espressa sempre in ms) tra il 90% ed il 30% del potenziale d'azione cardiaco (tanto più aumenta tanto più il potenziale assume un aspetto triangolare). La *dispersion of repolarization* è una intrinseca eterogeneità legata alle diverse caratteristiche elettrofisiologiche delle cellule epicardiche, endocardiche e del miocardio intermedio (le cosiddette

cellule M) [77]. Queste ultime, tipicamente, rispondono in maniera più evidente a modificazioni della frequenza cardiaca o a farmaci, creando i presupposti per una eterogeneità transmurale chiamata in causa non solo nella genesi, ma anche nel mantenimento della TdP [78]. La precisa relazione tra eventi elettrofisiologici ed insorgenza di TdP è ancora materia di dibattito. È opinione comune, tuttavia, che la TdP sia innescata da post depolarizzazioni precoci (durante la fase 2 del potenziale d'azione cardiaco) in presenza di un prolungamento dell'intervallo QT e di aumentata dispersione [79]. Le post depolarizzazioni precoci sono oscillazioni del potenziale di membrana che, qualora raggiungano un valore soglia, si traducono in battiti ectopici ventricolari, la base fisiopatologica dei circuiti di rientro che in ultima istanza innescano la TdP. Le post depolarizzazioni precoci possono altresì causare una dispersione della ripolarizzazione e pertanto eterogeneità della refrattarietà (il substrato del circuito del rientro) [17, 80].

È degno di nota il fatto che il prolungamento del potenziale d'azione cardiaco, in assenza dei parametri *TRIaD*, sia addirittura antiaritmico [81]. In una recente rassegna, lo stesso Hondeghem ha criticato la politica adottata dall'FDA, che enfatizza in misura eccessiva l'importanza degli studi clinici, ed ha avvalorato l'importanza dei suddetti parametri *in vitro* come condizione necessaria e sufficiente nella genesi della TdP [82].

**Figura 4.** Meccanismi elettrofisiologici coinvolti nella genesi della TdP. Le frecce tratteggiate indicano un *pathway* ipotetico non ancora universalmente riconosciuto. Per maggiori approfondimenti si consulti il testo. PDP: post depolarizzazioni precoci.



### 1.3.3 Il problema della dose dipendenza

L'affermazione, talora presente in letteratura, che il prolungamento dell'intervallo QT indotto da farmaci (con conseguente insorgenza di TdP) non è dose-dipendente genera confusione, giacché in realtà il prolungamento del QT da farmaci è sicuramente dose-dipendente, con rare eccezioni, costituite da alcuni composti (come la chinidina) che presentano una curva dose-risposta a campana a causa della complessa azione farmacologica su diversi bersagli. Anche il termine idiosincratice, riferito a volte alla TdP da farmaci, contribuisce a creare confusione. In effetti, già alcuni anni fa, Roden [83] suggerì di evitare tale termine ed introdusse il concetto di "repolarization reserve". Egli postulò che, nel ventricolo normale, non vi fosse sostanzialmente alcun rischio di sviluppare TdP grazie alla normale funzionalità delle correnti di ripolarizzazione miocardica (soprattutto  $I_{kr}$  ed  $I_{ks}$ , vedi sopra) che assicurano una buona riserva di ripolarizzazione. Tuttavia, qualora i noti fattori di rischio (vedi **tabella 2**) riducano tale riserva, la probabilità di torsioni di punta aumenta considerevolmente. È chiaro che, in concomitanza di diversi fattori di rischio, anche dosi di farmaco relativamente esigue possono contribuire a scatenare un episodio aritmico. Destano particolare preoccupazione i soggetti suscettibili per ragioni genetiche (soprattutto canalopatie che coinvolgono i canali del potassio o del sodio). In conclusione, il prolungamento dell'intervallo QT dovuto a farmaci è di per se, salvo rare eccezioni, dose-dipendente, ma l'effettivo verificarsi di episodi di TdP dipende dallo stato attuale della riserva di ripolarizzazione, con variazioni intra- e inter-individuali a seconda della concomitanza dei diversi fattori di rischio succitati.

## 1.4 Aspetti Regolatori

### 1.4.1 Considerazioni generali

Come già accennato, il problema del QT lungo e della TdP da farmaci ha avuto notevoli implicazioni regolatorie, non solo perché ha provocato la revoca di molti farmaci già in commercio, ma anche perché ha significativamente modificato l'approccio alla cosiddetta *safety pharmacology* durante lo sviluppo di un nuovo farmaco [84]. Le agenzie regolatorie [Food and Drug Administration (FDA) negli Stati Uniti d'America ed European Medicine Agency (EMA) nell'Unione Europea] hanno già adottato due documenti predisposti dalla International Conference on Harmonization (ICH). Nel Maggio del 2005, l'ICH ha pubblicato una linea guida sulla strategia da seguire durante lo sviluppo pre-clinico per mettere in evidenza la potenzialità di un farmaco di prolungare l'intervallo QT (ICH S7B Guideline) [85]. Esiste anche una linea guida clinica (ICH E14 Guideline) che riguarda la valutazione clinica del prolungamento dell'intervallo QT/QTc e prende in esame anche le problematiche relative alla misurazione corretta del QT. Più precisamente, l'ICH E14 fa riferimento al cosiddetto *thorough QT study* (TQTS) prima di procedere ad un ulteriore sviluppo del farmaco [86].

Va innanzitutto precisato che i due documenti regolatori rappresentano un compromesso tra le diverse opinioni e prese di posizione, anche contrastanti, assunte dalle Agenzie Regolatorie (inclusa quella giapponese).

### 1.4.2 Gli studi pre-clinici

L'ICH S7B descrive la strategia da seguire per identificare la capacità di una nuova molecola e dei suoi metaboliti di prolungare la ripolarizzazione ventricolare e correlate l'entità del prolungamento alle concentrazioni del farmaco testato. Nonostante la linea guida faccia riferimento a numerosi modelli non-clinici, i metodi maggiormente utilizzati (il cosiddetto *core system*) sono gli studi *in vitro* che saggiano la capacità inibitoria del farmaco

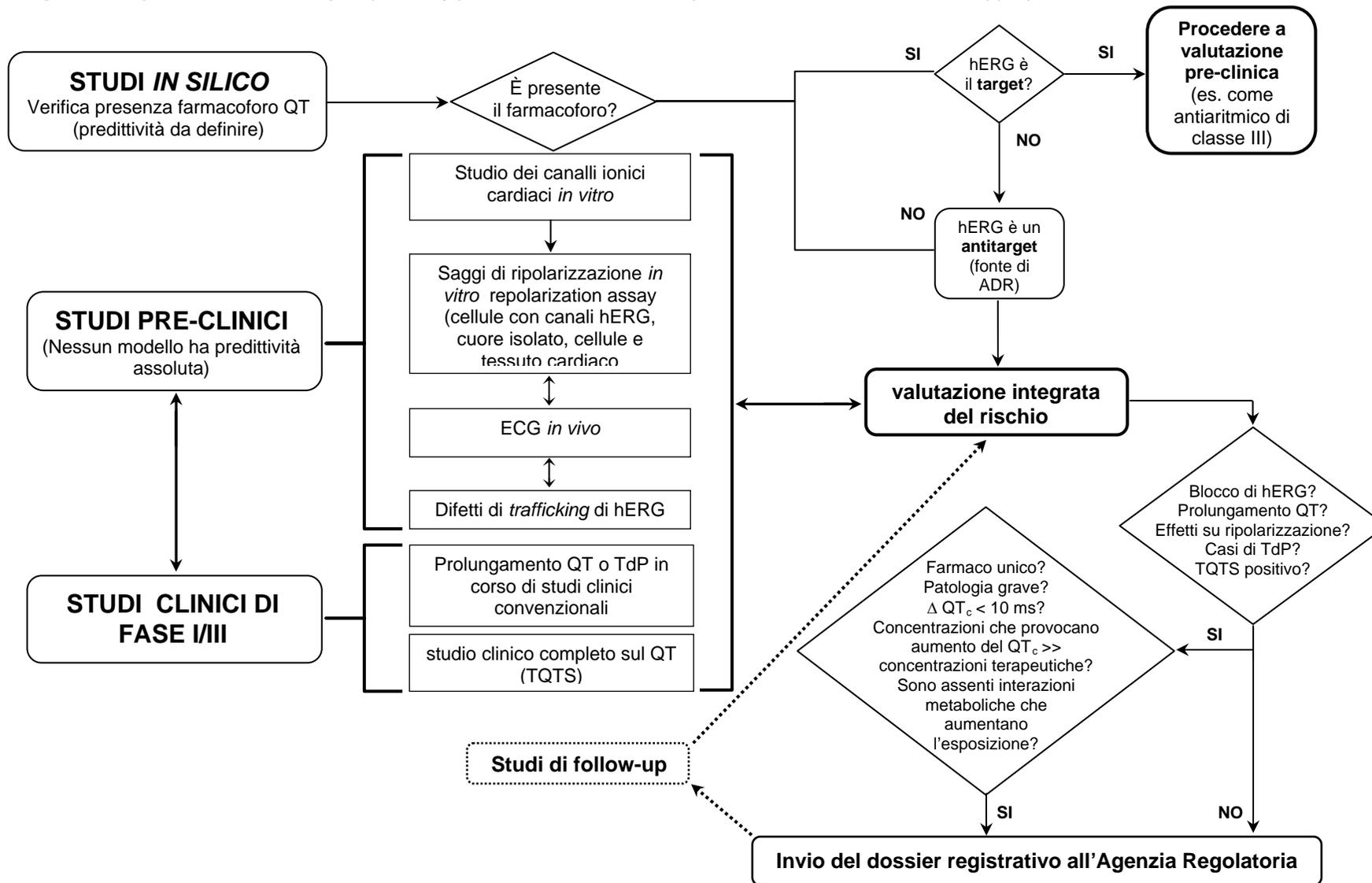
nei confronti di hERG/I<sub>Kr</sub> e quelli *in vivo* condotti su animali da laboratorio (specialmente cani, scimmie, maiali, conigli, furetti o cavie). Da notare come l'ICH S7B non faccia riferimento ai modelli *in silico* di modellistica molecolare, nonostante questa sia un'area di intense ricerche [5, 15, 80, 87-89]. In letteratura esistono numerose revisioni sui limiti e pregi dei modelli pre-clinici, che pertanto non verranno affrontati nel dettaglio [1, 5, 80, 90-98].

La loro sensibilità (i.e. la capacità di identificare come positivi quei farmaci associati ad un rischio reale di TdP nell'uomo) è sufficientemente elevata [99-104] mentre la specificità (i.e. la capacità di definire come negativi quelle molecole che non presentano un effettivo rischio) non è stata ancora stabilita [105]. Verapamil è un esempio emblematico di falso positivo: blocca i canali K<sup>+</sup> hERG [106] pur non avendo un rischio significativo di TdP nell'uomo a causa del concomitante effetto inibitorio sui canali L-type del Ca<sup>++</sup> [34, 35]. Analogamente, citalopram è un farmaco con un'azione inibitoria su K<sup>+</sup> hERG ma senza un effetto rilevante sull'intervallo QT [107, 108]. Le variegata proprietà di blocco nei confronti dei diversi canali ionici implicati nel potenziale d'azione cardiaco sono state chiamate in causa per spiegare la discrepanza tra i test pre-clinici e quelli clinici [109]. Considerato queste premesse, per migliorare la predittività di questi modelli è importante valutare *in vitro* l'impatto di una molecola nella sua globalità considerando, in modo particolare, gli effetti tessuto-specifici sugli ioni e dunque sul potenziale d'azione cardiaco [110]. L'esistenza di falsi negativi "non clinici" (i.e. farmaci con un rischio di TdP nell'uomo in assenza di evidenza pre-clinica) è tuttora materia di discussione, come evidenziato da una recente rassegna [111].

Va riconosciuta l'importanza e gli sforzi compiuti nell'ultima decade per migliorare la predittività dei modelli *in vitro/in vivo*. Si può affermare che tali metodiche, oramai molto raffinate, sono in grado di predire in maniera realistica ed affidabile un potenziale effetto cardiotossico nell'uomo e

rappresentano uno *step* obbligato nel valutare la necessità di uno studio clinico *ad hoc* [112]. Tuttavia, allo stato attuale delle conoscenze, nessun modello ha un valore predittivo assoluto o può essere considerato come *gold standard*. Pertanto, la strategia raccomandata dalle linee guida e condivisa da molti esperti del settore prevede un approccio integrato del rischio mediante l'adozione di svariati modelli (**figura 5**) [5, 17, 80, 113-115]. Su queste basi si stanno creando numerosi consorzi [116].

**Figura 5.** Algoritmo decisionale (semplificato) per valutare la TdP *liability* di un farmaco durante lo sviluppo pre-clinico e clinico.



La validità e la predittività dei modelli *in vitro/in vivo* è testimoniata dal fatto che, ad oggi, nessun farmaco con evidenze pre-cliniche negative ha successivamente rivelato una tossicità cardiaca nell'uomo. Inoltre, composti noti per il loro rischio pro-aritmico nell'uomo hanno inevitabilmente confermato tali proprietà tossicologiche negli studi non-clinici.

L'Unione Europea (ed il Giappone) hanno opinioni divergenti sulla predittività degli studi non-clinici: mentre le autorità Europee non ritengono vincolanti i risultati provenienti da studi clinici e riconoscono il valore predittivo e la necessità di un approccio pre-clinico integrato, l'FDA sancisce la necessità di studi clinici indipendentemente dai risultati di quelli non-clinici, salvo poche eccezioni. La versione definitiva della linea guida sugli studi clinici (ICH E14) tiene in considerazione queste differenze, riconoscendo come alcuni fattori "possano ridurre" la necessità di uno studio clinico *ad hoc* (tra l'altro molto costoso), ad esempio l'impossibilità di condurre lo studio in soggetti sani. È evidente come l'espressione "possano ridurre" è soggetta a svariate interpretazioni. La presa di posizione dell'FDA è verosimilmente legata al caso alfuzosin, agonista dei canali del sodio utilizzato come tipico esempio di farmaco con un rischio riconosciuto di prolungamento dell'intervallo QT nell'uomo non altresì previsto dagli studi pre-clinici. In realtà, i recenti risultati di un modello *in vitro* hanno messo in luce un significativo ritardo della ripolarizzazione ventricolare compatibile con il prolungamento del potenziale d'azione cardiaco riscontrato nell'uomo [39]. L'ICH S7B, qualora interpretata alla luce dei margini di sicurezza e delle problematiche legate al *trafficking*, assume un'importanza non trascurabile nel panorama dello sviluppo di una nuova molecola. Tuttavia, la linea guida non fa specifico riferimento alle suddette tematiche. Wible recentemente ha testato un innovativo modello di screening definito *hERG-Lite® system*, che correttamente è stato in grado di predire (senza falsi positive e negativi) i

farmaci in grado di bloccare hERG tramite l'inibizione del *trafficking* intracellulare [117].

Negli studi di tollerabilità e sicurezza è importante stabilire dei margini di sicurezza. A tal proposito, Redfern ha determinato il valore relativo dei dati elettrofisiologici (*in vitro/in vivo*) nel predire il rischio di TdP nell'uomo [118]. La sua sofisticata valutazione ha portato a suggerire che, in generale, un margine di 30 volte tra IC<sub>50</sub> su hERG (la concentrazione in grado di causare una inibizione del canale del 50%) ed il picco di concentrazione plasmatica libera alle dosi terapeutiche è adeguato ad escludere un effetto clinicamente significativo sulla ripolarizzazione cardiaca. L'autore correttamente riconosce come il *range* sia ampio e dipenda dalla severità della patologia sottostante: di fronte ad una malattia letale un margine di 10 può talora essere accettabile qualora non esistano delle alternative terapeutiche sicure ed efficaci. Qualora il margine sia inferiore a 30 si richiede pertanto un monitoraggio assiduo nelle fasi di sviluppo del farmaco.

Le difficoltà maggiori nell'extrapolare i risultati *in vitro* alla pratica clinica sono legate alle proprietà farmacocinetiche della molecola che devono necessariamente essere studiate. Le concentrazioni plasmatiche nell'uomo vanno interpretate parallelamente al volume apparente di distribuzione ed al *pathway* metabolico (i metaboliti, se attivi, possono conservare una tossicità). Inoltre, le concentrazioni tissutali, specificatamente quella cardiaca, possono superare quelle plasmatiche se il farmaco ha un elevato volume di distribuzione. Caverio e Crumb hanno elegantemente discusso il caso della terfenadina (farmaco caratterizzato da un sostanziale accumulo cardiaco) e cetirizina (composto, al contrario, senza particolare affinità per il miocardio), descrivendo l'importanza della concentrazione tissutale cardiaca nella valutazione dei margini di sicurezza [34]. Le situazioni di overdose o la contemporanea somministrazione di farmaci con un analogo *pattern* metabolico (es. inibitori del citocromo CYP3A4) possono altresì contribuire a

livelli plasmatici sopraterapeutici. Astemizolo e terfenadina rappresentano un valido esempio dell'importanza dei parametri farmacocinetici e farmacodinamici nell'interpretazione dei margini di sicurezza e del rischio di TdP [13]. Terfenadina viene rapidamente metabolizzata a fexofenadina che mantiene le proprietà anti-istaminiche (blocco dei recettori H1) ma non ha un effetto significativo sull'intervallo QT nemmeno a dosi considerevolmente superiori a quelle terapeutiche. Al contrario, i metaboliti principali di astemizolo (desmetilastemizolo e norastemizolo) mantengono la capacità di bloccare hERG a concentrazioni nano-molari [119]. In aggiunta, l'elevato volume di distribuzione (la concentrazione cardiaca è stimata 100 volte superiore a quella plasmatica [120, 121] e la lunga emivita di eliminazione del desmetilastemizolo (9,5 giorni) suggeriscono e giustificano il maggior potenziale pro-aritmico di astemizolo. Infine, per i composti racemici come il metadone è importante testare possibili differenze stereo-selettive dei diversi enantiomeri in termini di inibizione di hERG [122].

### **1.4.3 Gli studi clinici**

La linea guida sugli studi clinici (ICH E14) fornisce raccomandazioni riguardo il disegno, condotta, analisi ed interpretazione degli studi clinici atti a valutare la capacità di un farmaco di prolungare la ripolarizzazione ventricolare. Nello specifico, fa riferimento al cosiddetto "thorough QT/QTc study" (TQTS), tipicamente condotto in soggetti sani, inteso a determinare un possibile effetto farmacologico del composto in studio sull'intervallo QT dell'elettrocardiogramma. Tali raccomandazioni sono generalmente applicabili non solo a nuovi farmaci con biodisponibilità sistemica, ma anche a principi attivi già in commercio nel caso in cui una nuova dose, via di somministrazione o indicazione terapeutica possano implicare un rischio. Le eccezioni sono rappresentate dai medicinali con una distribuzione altamente localizzata o somministrati per via topica e non assorbiti. Permangono

incertezze sull'applicazione o meno della linea guida per prodotti biotecnologici, vaccini, terapie sostitutive con enzimi e prodotti di derivazione emetica o plasmatica.

Le principali problematiche, implicazioni e le necessità cui deve rispondere un TQTS sono state recentemente oggetto di discussione e riassunte in **tabella 5** [123-129]. Va subito precisato che lo scopo del TQTS non è quello di quantificare il rischio di TdP ma piuttosto di escludere un rischio pro-aritmico. Lo studio viene considerato "positivo" qualora si riscontri un prolungamento dell'intervallo QT (aggiustato al *baseline* e corretto nei confronti del placebo) superiore a 10 ms al limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95%. Un TQTS positivo implica una valutazione elettrocardiografica continua ed esaustiva nelle fasi di sviluppo successive. Un aspetto importante è dato dalla numerosità del campione in studio: generalmente, sono richiesti 40-60 individui per braccio di trattamento, con alti costi [130, 131].

Il TQTS deve essere condotto nelle fasi precoci di sviluppo di un farmaco ma non deve rappresentare il primo studio, poiché è necessario conoscere i dati clinici di base (es. tollerabilità, farmacocinetica ed attività dei metaboliti) per un corretto disegno. Dato il ruolo critico nel determinare la frequenza nella raccolta dei dati elettrocardiografici nelle fasi successive dello sviluppo di un farmaco, lo studio deve garantire un elevato grado di confidenza, intesa come abilità nell'identificare differenze significative dal punto di vista clinico. Pertanto, l'adozione di un controllo positivo è oramai richiesta per testare la sensibilità dello studio. Qualora il composto in studio appartenga ad una classe terapeutica già notoriamente associata a prolungamento del QT, il controllo positivo può essere scelto tra i membri della medesima classe, in modo da consentire valutazioni significative. È opinione comune, tuttavia, che la moxifloxacina alla dose di 400 mg per via orale rappresenti il *gold standard* nel testare la sensibilità del TQTS [132]. È interessante notare

come, sulla base del profilo farmacocinetico della moxifloxacin, sono stati estrapolati dei criteri di massima per definire un TQTS negativo: (a) un prolungamento del QT (aggiustato al *baseline* e corretto sul placebo) compreso tra 8 e 15 ms; (b) picco dell'effetto tra 1 e 3 ore dopo la dose; (c) limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95% al picco dell'effetto superiore ai 5 ms; (d) successiva normalizzazione del quadro elettrocardiografico [133].

L'esperienza acquisita nel corso degli ultimi anni ha messo in evidenza come un adeguato approfondimento della relazione tra concentrazione plasmatica e modificazioni dell'intervallo QT forniscano informazioni aggiuntive a supporto del processo decisionale [134].

L'ICH E14 riconosce che ci possono situazioni inusuali in cui il TQTS è negativo ma i dati pre-clinici sono altamente indicativi di un rischio pro-aritmico. Se tale discrepanza non può essere spiegata da altri dati ed il farmaco appartiene ad una classe terapeutica a rischio, una valutazione allargata e dettagliata sulla sicurezza cardiaca risulta appropriata. La linea guida chiaramente indica che le "analisi di categoria" possono fornire informazioni importanti (es. numero e percentuali di pazienti con un intervallo QT al di fuori dei valori soglia). Modificazioni clinicamente significative del QT possono essere espresse in termini di valore assoluto o rispetto al *baseline*. Non esiste consenso sui tali limiti, pertanto l'ausilio di analisi multiple e diversi limiti rappresenta un approccio ragionevole (es. intervallo QTc > 450, > 480 o > 500 ms; modificazioni dal *baseline* > 30 o > 60 ms).

Restano tuttora da chiarire alcune situazioni particolari, soprattutto qualora si riscontri disomogeneità tra l'effetto medio (al di sopra o al di sotto della soglia dei 5 ms) e l'intervallo di confidenza al 95% (rispettivamente al di sotto o al di sopra dei 10 ms di soglia). Un'area altrettanto problematica riguarda i farmaci oncologici, per i quali il TQTS non può necessariamente

arruolare soggetti sani. In questi casi, si dovrebbero monitorare e definire altri parametri di sicurezza cardiaca come la sincope o le tachiaritmie ventricolari [135-137].

Infine, si sta accendendo un serrato dibattito sulle conseguenze legate ad un abbreviamento dell'intervallo QT, un aspetto ancora una volta non sufficientemente preso in esame dalle linee guida [138-140]. Si tratta in verità di un concetto relativamente recente: Gussak per primo descrisse un intervallo QT eccessivamente abbreviato in 3 componenti di una famiglia, coniando l'entità nota come sindrome del QT corto [141]. Esiste un parallelo tra questa sindrome e quella del QT lungo, che tuttavia si basa su presupposti incerti e tutt'altro che condivisi. Tra i farmaci in grado di causare un accorciamento dell'intervallo QT vanno senza dubbio menzionati pinacidil, levcromakalim e nicorandil, noti come attivatori dei canali del potassio ATP dipendenti in grado di causare un accorciamento del potenziale d'azione cardiaco ed innescare fibrillazione ventricolare negli studi pre-clinici [142]. Nicorandil, approvato per il trattamento dell'angina pectoris, viene utilizzato anche nei pazienti con sindrome del QT corto. Il caso Rufinamide, farmaco orfano indicato per la sindrome di Lennox-Gastaut, illustra ancora una volta le diverse prese di posizione delle Agenzie Regolatorie ed, in generale, l'attuale approccio precauzionistico nella valutazione delle molecole in grado di abbreviare l'intervallo QT [140]. A differenza della scheda tecnica Europea, quella Americana controindica rufinamide nei pazienti con sindrome del QT corto congenita e raccomanda precauzione qualora si somministrino farmaci in grado di abbreviare l'intervallo QT. Allo stato attuale delle conoscenze, nonostante siano stati proposti alcuni criteri di massima, pare ancora prematuro considerare l'abbreviazione dell'intervallo QT come un problema così emergente da richiedere un intervento regolatorio.

**Tabella 5.** Principali difficoltà nel condurre un TQTS in volontari sani.

---

|                                       |  |
|---------------------------------------|--|
| <b>Variabilità</b>                    | <p>Elevata variabilità intra-individuale nei valori dell'intervallo QT (es. variazioni circadiane e stagionali).</p> <p>Elevata variabilità inter-individuale nei valori dell'intervallo QT (maschi vs femmine).</p> <p>Prevalenza sconosciuta nella popolazione generale dei <i>carriers</i> con mutazioni silenziose dei canali ionici coinvolti nella ripolarizzazione cardiaca (tali soggetti potrebbero avere un intervallo QT normale ma una ridotta riserva di ripolarizzazione).</p> <p>Variabilità individuale nella capacità di metabolizzare il farmaco.</p>  |
| <b>Disegno dello studio</b>           | <p>40-60 soggetti per braccio di trattamento (costi elevati).</p> <p>Necessità di un controllo positivo e con placebo.</p> <p>Necessità di studiare più dosi per la valutazione della dose-dipendenza e dei margini di sicurezza.</p>  |
| <b>Misurazione dell'intervallo QT</b> | <p>Definizione del termine dell'onda T (modificazioni della morfologia dell'onda T ed insorgenza dell'onda U possono infatti preludere all'insorgenza di TdP).</p> <p>Errori nella misurazione manuale dell'intervallo QT.</p> <p>Variabilità nella frequenza cardiaca (necessità di correggere l'intervallo QT per la frequenza cardiaca).</p> <p>Mancanza di una correlazione attendibile tra le misurazioni Holter e quelle standard.</p> <p>Mancanza di standardizzazione nella lettura automatica degli ECG (i metodi computerizzati sono spesso inattendibili).</p> <p>Necessità di un laboratorio centralizzato per l'analisi dei dati.</p> |

---

## Continuazione

---

### **Farmacocinetica**

Timing delle misurazioni ECG rispetto alle concentrazioni plasmatiche al picco/steady state; considerare anche il volume di distribuzione e le concentrazioni tissutali.

Necessità di considerare le concentrazioni plasmatiche del farmaco e degli eventuali metaboliti attivi.

Necessità per i metodi selettivi nei confronti degli enantiomeri di monitorare le concentrazioni plasmatiche dei composti racemici.

---

### **Analisi ed interpretazione dei dati**

Le diverse formule di correzione dell'intervallo QT possono sottostimare a frequenze elevate e sovrastimare a basse frequenze cardiache (es. formula di Bazett: un aumento del QT di 4-5 ms può rappresentare un *bias* nella misurazione).

Necessità di formule individuali per la correzione.

Estrapolazione dei risultati alla popolazione target (soprattutto bambini e pazienti con alterazioni epatiche e renali che possono influenzare il metabolismo del farmaco).

Il cut-off di 5 ms (ed un intervallo di confidenza oltre 10 ms) è una soglia convenzionale definita dall'ICH ma non implica necessariamente un rischio significativo di TdP.

Il valore medio del QT non è rappresentativo dei pazienti con aumento considerevoli del QT ( $QT_c > 500$  ms or  $\Delta QT_c > 60$ ms): potrebbe trattarsi di *carriers* con mutazioni silenti.

---

## **2. LA DIMENSIONE DEL PROBLEMA**

### **2.1 Obiettivo dello Studio**

La quantificazione del rischio è stata affrontata analizzando l'esposizione della popolazione generale (al di fuori dell'ambiente ospedaliero) a farmaci antibatterici. Gli obiettivi specifici di questa prima fase del progetto di ricerca possono essere così riassunti:

- 1.** identificazione degli antibatterici con evidenze di TdP o di prolungamento dell'intervallo QT;
- 2.** classificazione dei principi attivi, così individuati, in 5 categorie di rischio sulla base di criteri predefiniti e strutturati in accordo alla forza delle evidenze;
- 3.** analisi dei consumi in 14 paesi Europei e stima dell'esposizione nell'arco temporale di 8 anni (1998-2005), con particolare riferimento alle classi di rischio più problematiche.

Punto di partenza è stata la tabella pubblicata dal gruppo di ricerca coordinato dal Prof. De Ponti, contenente un elenco di farmaci che presentavano all'epoca (Dicembre 2001) evidenze di prolungamento dell'intervallo QT [9]. Nell'articolo sono presenti anche i dati di utilizzo dei farmaci ivi elencati, riferiti al 1998. La scelta dei farmaci antibatterici deriva dal loro vasto utilizzo e dal fatto che il trattamento domiciliare implica un minor controllo medico rispetto a quello in regime di ricovero ospedaliero. Un effetto avverso come la TdP non può infatti essere contrastato prontamente ed efficacemente come in ambito ospedaliero: il rischio di complicanze gravi è dunque maggiore.

## 2.2 Materiali e Metodi

### 2.2.1 Identificazione ed organizzazione delle evidenze

Il punto di partenza è stata la raccolta della letteratura scientifica pubblicata ed aggiornata a Dicembre 2007. La ricerca, effettuata in MEDLINE, prevedeva l'identificazione delle evidenze cliniche e pre-cliniche di TdP e prolungamento dell'intervallo QT legati a farmaci antibatterici. Sono state pertanto utilizzate delle parole chiave: "Anti-Bacterial Agents [Pharmacological Action] [MeSH]", "Long QT Syndrome/chemically induced [MeSH]", "Torsades de Pointes/chemically induced [MeSH]", "HERG\*", "QT\*", "arrhythmia", combinate con il nome di ciascun antibiotico (principio attivo) attualmente in commercio. Le rassegne, le revisioni sistematiche e le relative sezioni bibliografiche sono state esaminate allo scopo di includere in maniera esaustiva tutta la letteratura disponibile. Inoltre, sono state consultate le schede tecniche Americane ed Europee dei medicinali (Summary of Product Characteristics, SPC; Physician Desk Reference, PDR; British National Formulary, BNF) ed i siti web delle Agenzie Regolatorie: Food and Drug Administration (FDA) ([www.fda.gov](http://www.fda.gov)), European Medicines Agency (EMA) ([www.emea.europa.eu](http://www.emea.europa.eu)), Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) ([www.aifa.gov](http://www.aifa.gov)) e Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA) ([www.mhra.gov.uk](http://www.mhra.gov.uk)).

I principi attivi sono stati valutati sulla base di criteri già pubblicati, validati e descritti. Va precisato come ciascun criterio presenti una serie di vantaggi e limiti che devono necessariamente essere considerati nella valutazione delle evidenze (**tabella 6**). È evidente che non sarebbe corretto considerare ugualmente pericolosi farmaci con rischio accertato di TdP e farmaci che hanno solo evidenze preliminari in modelli pre-clinici. Pertanto, si è reso necessario stabilire alcuni parametri per organizzare le evidenze individuate. In questo contesto, i criteri sono stati combinati e strutturati per identificare

5 categorie di rischio sulla base della forza delle evidenze (clinica, pre-clinica o interventi regolatori): dal gruppo A, che identifica gli antibatterici con almeno una evidenza di TdP o prolungamento dell'intervallo QT (sia clinica che pre-clinica), fino a definire un gruppo E, che comprende antibiotici con le evidenze più forti (studi clinici o *case reports* di TdP contestualmente a provvedimenti regolatori già intrapresi) (**tabella 7**).

**Tabella 6.** Criteri utilizzati per organizzare le evidenze disponibili sul potenziale pro-aritmico da farmaci.

| <b>CRITERI</b>   | <b>VANTAGGI</b>  | <b>SVANTAGGI</b>   |
|--|--|--|
| <p><b>I. EVIDENZE CLINICHE PUBBLICATE</b></p> <p><b>A.</b> Studi clinici e/o <i>case reports</i> che associno il farmaco a TdP/tachiaritmie ventricolari.</p> <p><b>B.</b> Studi clinici che documentino il mero prolungamento del QT.</p> | <p>Fonte più idonea a documentare un effetto.</p> <p>Permettono di valutare la reale rilevanza clinica dei modelli <i>in vitro/in vivo</i>.</p> <p>I <i>case reports/case series</i> rappresentano segnali precoci di cardiotoxicità in fase IV e possono aiutare nell'identificazione dei <i>silent carriers</i> della sindrome congenita del QT lungo.</p> | <p><i>Publication bias</i>: molti <i>case reports</i> sono poco attendibili (fattori di confondimento); gli studi negativi (assenza di un effetto sul QT) sono di difficile esecuzione e pubblicazione.</p> <p>Il prolungamento del QT è un marker surrogato e non c'è consenso unanime sull'entità del prolungamento che assume rilevanza clinica.</p>  |
| <p><b>II. EVIDENZE PRE-CLINICHE PUBBLICATE</b></p> <p><b>A.</b> Studi in vitro (inibizione dei canali hERG).</p> <p><b>B.</b> Studi in vitro (prolungamento del potenziale d'azione) o in vivo (prolungamento del QT).</p>                 | <p>Informazioni utili per studiare il meccanismo d'azione</p> <p>Permettono di verificare velocemente eventuali differenze tra farmaci della stessa classe</p> <p>Utili nello screening pre-clinico</p>  | <p>Varie correnti controllano la ripolarizzazione ventricolare; farmaci che ritardano la velocità di conduzione possono prolungare il QT.</p> <p>Nessun modello sperimentale ha un valore predittivo assoluto.</p> <p>Le diverse metodiche impiegate dai vari laboratori sono responsabili di differenze significative in termini di inibizione di hERG.</p> <p>È difficile estrapolare i risultati alle concentrazioni plasmatiche in vivo (si dovrebbero considerare le concentrazioni tissutali).</p> |

## Continuazione

---

**III. COMUNICATI UFFICIALI DI AGENZIE REGOLATORIE O SCHEDE TECNICHE DEI FARMACI** relativamente a:

**A.** prolungamento del QT od insorgenza di TdP;

**B.** aritmie cardiache come reazioni avverse.

Facilmente accessibili al medico proscrittore o al farmacista, nonostante si basino spesso su dati non disponibili nella letteratura internazionale

In genere rispecchiano effetti clinicamente rilevanti sulla ripolarizzazione cardiaca

Non utilizzabili come *gold standard* quanto a rilevanza clinica perché:

- Non sempre aggiornati.
  - Possono essere il risultato di misure precauzionali prese al momento dell'immissione in commercio (cioè possono considerare la TdP o il prolungamento del QT come un effetto di classe semplicemente per mancanza di dati).
  - Non vi è armonizzazione tra le diverse schede tecniche in uso nei diversi paesi.
-

**Tabella 7.** Categorie di rischio di TdP sulla base dei criteri precedentemente descritti.

| <b>Criteri</b>   | <b>Gruppo A</b>   | <b>Gruppo B</b>     | <b>Gruppo C</b>       | <b>Gruppo D</b> | <b>Gruppo E</b> |
|--|---|---------------------|-----------------------|-----------------|-----------------|
| <b>I. EVIDENZE CLINICHE</b>                                  | a. TdP/tachiaritmie ventricolari associate a prolungamento del QT<br>b. Mero prolungamento del QT | qualsiasi criterio* | } uno dei due criteri | Ia              | Ia              |
|  |   |                     |                       |                 |                 |
| <b>II. EVIDENZE PRE-CLINICHE</b>                             | a. Blocco di hERG <i>in vitro</i><br>b. Prolungamento del QT <i>in vitro/in vivo</i>              | qualsiasi criterio* |                       |                 |                 |
|  |   |                     |                       |                 |                 |
| <b>III. COMUNICATI UFFICIALI/SCHEDA TECNICHE DEI FARMACI</b> | a. TdP/prolungamento del QT<br>b. Aritmia cardiaca non specificata                                |                     |                       |                 | IIIa            |
|  |   |                     |                       |                 |                 |

\* Farmaci con solo il criterio IIIb non sono stati oggetto di analisi (si veda per approfondimento [9, 14]).

### 2.2.2 Raccolta dei dati di consumo

A seguito di un protocollo definito e concordato a priori, i dati grezzi relativi al consumo europei di antibatterici sono stati forniti dal progetto ESAC (European Surveillance of Antimicrobial Consumption, [www.esac.ua.ac.be](http://www.esac.ua.ac.be)), un *network* internazionale di sistemi di sorveglianza nazionali, creato ufficialmente a seguito della conferenza Europea sull'uso degli antibiotici tenutasi a Bruxelles nel Novembre 2001. L'obiettivo della fase di *start-up* è stato la raccolta e, soprattutto l'armonizzazione dei dati di utilizzo (ospedalieri ed ambulatoriali) degli antibatterici nella comunità Europea a partire da fonti (*database*) pubblicamente accessibili. L'obiettivo finale a lungo termine risiede in quella che viene definita come la "Good Antibiotic Practice". Il progetto è coordinato dall'Università di Anversa ed include, ad oggi, 34 paesi (di cui 27 appartenenti alla comunità Europea). Il progetto, implementato nel corso degli anni, ha allargato nel corso degli anni il bacino dei farmaci in studio, includendo nel monitoraggio anche antivirali ed antimicotici. Tale progetto è finanziato dall' European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), con sede a Stoccolma. Da notare come l'inclusione dei dati all'interno del database ESAC sia subordinata a valutazioni metodologiche atte a garantire la validità e l'attendibilità del dato stesso (es. in termini di provenienza o di copertura della popolazione). La descrizione di tali dettagli metodologici è stata già oggetto di discussione e pubblicazione [143, 144].

Sulla base delle raccomandazioni della World Health Organisation (WHO), a ciascun principio attivo è stato assegnato il suo codice sulla base della classificazione Anatomico Terapeutica Chimica (ATC). Ogni codice ATC di V livello contraddistingue inequivocabilmente un principio attivo. Il consumo, in termini di volume, è stato espresso come dose definita giornaliera (DDD) x 1000 abitanti die, indicata come DID. La DDD rappresenta la dose media giornaliera assunta negli adulti per la principale indicazione terapeutica del farmaco (<http://www.whocc.no/>). Il sistema **ATC/DDD** è oramai

universalmente riconosciuto e rappresenta il *gold standard* negli studi internazionali di farmaco-utilizzazione. Il vantaggio principale di questa metodologia consiste nella possibilità di confrontare il trend temporale nei consumi tra popolazioni numericamente differenti. Sulla base delle caratteristiche e della qualità globale dei dati, è stato scelto un campione di 14 paesi (Austria, Belgio, Danimarca, Finlandia, Francia, Germania, Ungheria, Italia, Lussemburgo, Olanda, Slovenia, Spagna, Svezia e Regno Unito) per valutare l'entità dell'esposizione della popolazione Europea. L'analisi ha valutato il trend temporale nei consumi relativamente ad una finestra temporale di 8 anni (1998-2005). I dati di utilizzo italiani relativi all'anno 1998 sono stati raccolti direttamente dall'IMS Health database (la fonte originaria dei dati ESAC per l'Italia) e convertiti in DDD. I risultati sono presentati sia come valore assoluto sia come percentuale del consumo totale di antibiotici e fanno riferimento alla letteratura corrente (Dicembre 2007).

## 2.3 Risultati

### 2.3.1 *Analisi della letteratura*

L'elenco degli antibatterici e delle relative evidenze di TdP o prolungamento dell'intervallo QT è presentato in **tabella 8**. Il gruppo E, che raccoglie i principi attivi con le evidenze più robuste, comprende 9 antibiotici: 6 fluorochinoloni (ciprofloxacina, gatifloxacina, grepafloxacina, levofloxacina, moxifloxacina e sparfloxacina) e 3 macrolidi (azitromicina, claritromicina ed eritromicina). Da un mero confronto numerico con il precedente lavoro pubblicato (Dicembre 2001), si evidenzia un sostanziale incremento dei composti (21 vs 11). Tali farmaci comprendono macrolidi (azitromicina, josamicina), fluorochinoloni (ciprofloxacina, gemifloxacina, lomefloxacina, norfloxacina, ofloxacina e plurifloxacina), un ketolide (telitromicina) ed il metronidazolo.

**Tabella 8.** Antibatterici con evidenze di TdP/prolungamento del QT (aggiornati a Dicembre 2007).

| <i>Farmaco</i>        | <i>Criteri</i> |                |                |                |             |             | <i>Gruppo</i> |             |
|-----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-------------|-------------|---------------|-------------|
|                       | <i>Ia</i>      | <i>Ib</i>      | <i>IIa</i>     | <i>IIb</i>     | <i>IIIa</i> | <i>IIIb</i> | <i>2001</i>   | <i>2007</i> |
| <b>Azitromicina</b>   | X              | X              | X <sup>a</sup> | X <sup>a</sup> | X           |             | /             | E           |
| <b>Ciprofloxacina</b> | X              | X <sup>a</sup> | X              | X <sup>a</sup> | X           | X           | /             | E           |
| <b>Claritromicina</b> | X              | X              | X              | X              | X           |             | E             | E           |
| <b>Clindamicina</b>   | X              |                |                |                |             |             | D             | D           |
| <b>Eritromicina</b>   | X              | X              | X              | X              | X           | X           | E             | E           |
| <b>Josamicina</b>     |                |                | X              |                |             |             | /             | B           |
| <b>Gatifloxacina</b>  | X              | X              | X              | X              | X           |             | B             | E           |
| <b>Gemifloxacina</b>  |                | X              | X              |                |             |             | /             | C           |
| <b>Grepafloxacina</b> | X              | X              | X              | X              | X           |             | E             | E           |
| <b>Levofloxacina</b>  | X              | X              | X              | X              | X           | X           | D             | E           |

**Continuazione**

|                                  |   |                |   |   |   |   |   |   |
|----------------------------------|---|----------------|---|---|---|---|---|---|
| <b>Lomefloxacina</b>             |   |                | X |   |   | X | / | B |
| <b>Metronidazolo</b>             | X |                |   |   |   |   | / | D |
| <b>Moxifloxacina<sup>b</sup></b> | X | X              | X | X | X |   | C | E |
| <b>Norfloxacina</b>              |   |                | X |   |   | X | / | B |
| <b>Ofloxacina</b>                | X |                |   | X |   | X | / | D |
| <b>Prulifloxacina</b>            |   |                | X | X | X |   | / | B |
| <b>Roxitromicina</b>             | X | X              | X | X |   |   | C | D |
| <b>Sparfloxacina</b>             | X | X              | X | X | X |   | C | E |
| <b>Spiramicina</b>               | X |                |   |   |   |   | D | D |
| <b>Cotrimossazolo</b>            | X | X              | X |   |   | X | D | D |
| <b>Telavancina<sup>c</sup></b>   |   | X <sup>a</sup> |   |   |   |   |   |   |
| <b>Telitromicina</b>             |   | X              | X | X | X |   | / | C |

<sup>a</sup> Gli studi negativi (i.e. nessun effetto sul QT) sono stati comunque riportati per completezza.

<sup>b</sup> I Thorough QT Studies (TQTs) non sono stati inclusi nella tabella.

<sup>c</sup> Telavancina non è stata inclusa nei risultati poiché è stato individuato un solo studio negativo.

*Case reports* di TdP/prolungamento del QT causati da interazioni farmacologiche sono stati inclusi nonostante il rapporto di causalità era dubbio.

### 2.3.2 *Analisi dei consumi*

Nell'arco temporale considerato si evidenzia una certa stabilità nei consumi di tutti gli antibatterici, almeno considerando la comunità Europea nella sua globalità: 266 DID nel 1998 vs 264 nel 2005. Alcune eccezioni vanno tuttavia menzionate: un incremento è stato osservato in Italia (6 DID), Danimarca ed Austria (2 DID ciascuna).

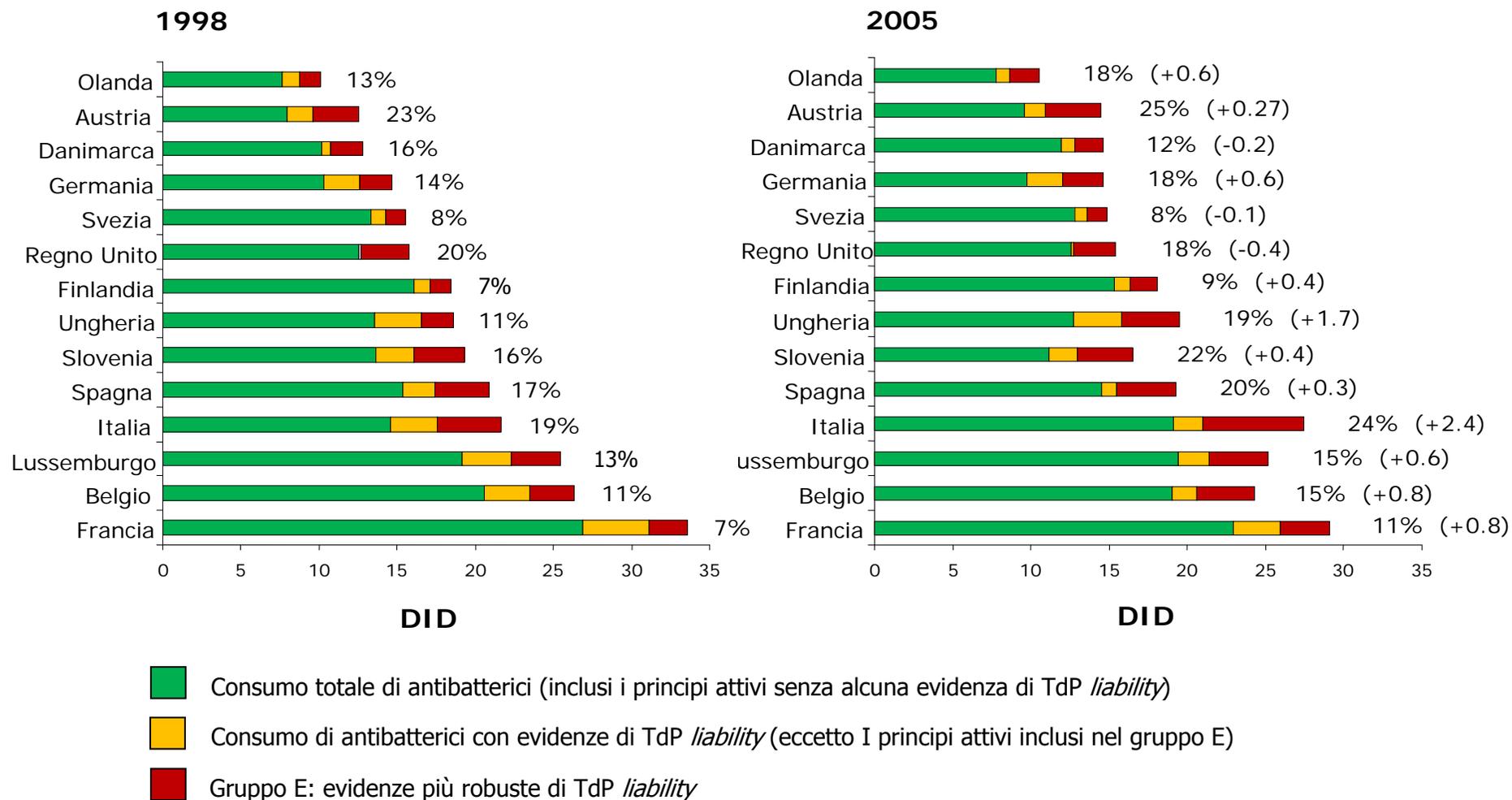
L'uso di antibiotici con almeno una evidenza di TdP o prolungamento dell'intervallo QT oscillava tra 2.2 (Svezia) e 7.1 DID (Italia) nel 1998 e tra 2.0 (Svezia) ed 8.4 DID (Italia) del 2005. Un aumento è stato notato nella metà dei paesi: dal 5% (Danimarca) al 33% (Ungheria). I paesi rimanenti (Belgio, Francia, Lussemburgo, Slovenia, Spagna, Svezia e Regno Unito) hanno mostrato una riduzione dei consumi con un massimo del 15% in Spagna.

Focalizzando l'analisi sul **gruppo E** (con le evidenze più forti e pertanto a maggior rischio) un incremento significativo è stato notato nella gran parte dei paesi, con sole 3 eccezioni (Danimarca, Svezia e Regno Unito). Nello specifico, il consumo oscillava tra **1.3** (Svezia ed Olanda) e **4.1 DID** (Italia) nel 1998 e tra **1.2** (Svezia) e **6.5 DID** (Italia) nel 2005. L'Italia è anche la nazione con l'incremento più consistente: nella finestra temporale di 8 anni l'esposizione della popolazione generale è aumentata di 1.6 volte, equivalente a 2.4 DID. Un utilizzo significativo è stato osservato anche in Spagna, Lussemburgo (3.8 DID ciascuno), Ungheria e Belgio (3.7 DID ciascuno). In termini percentuali, i risultati non mostrano sostanziali differenze, con aumenti in tutti i paesi Europei (con le eccezioni di Danimarca, Svezia e Regno Unito) ed in modo particolare in Ungheria: dall'11% del 1998 al 19% del 2005 (**figura 6**).

Gli antibiotici la cui entità di consumo raggiunge almeno 0.1 DID sono stati oggetto di un'analisi dettagliata, rappresentata graficamente in **figura 7**. Fluorochinoloni e macrolidi sono le classi farmacologiche maggiormente

impiegate. L'utilizzo di fluorochinoloni è aumentato in tutti i paesi analizzati con l'esclusione della norfloxacin in Slovenia, moxifloxacin nel Regno Unito e levofloxacin in Danimarca. Al contrario, l'uso dei macrolidi è aumentato solo in 7 paesi, ma particolarmente significativo è il dato della claritromicina. Il consumo è cresciuto in 10 nazioni su 14, e raddoppiato in Ungheria (2 DID nel 2005). Inoltre in Italia si è registrato un picco di 3 DID nel 2005. Come termine di paragone si prenda come modello la Svezia (0.1 DID di claritromicina nel 2005). L'utilizzo di eritromicina, al contrario, si è ridotto in tutta la comunità Europea, pur rappresentando ancora l'antibiotico maggiormente impiegato nel Regno Unito (1.7 DID nel 2005).

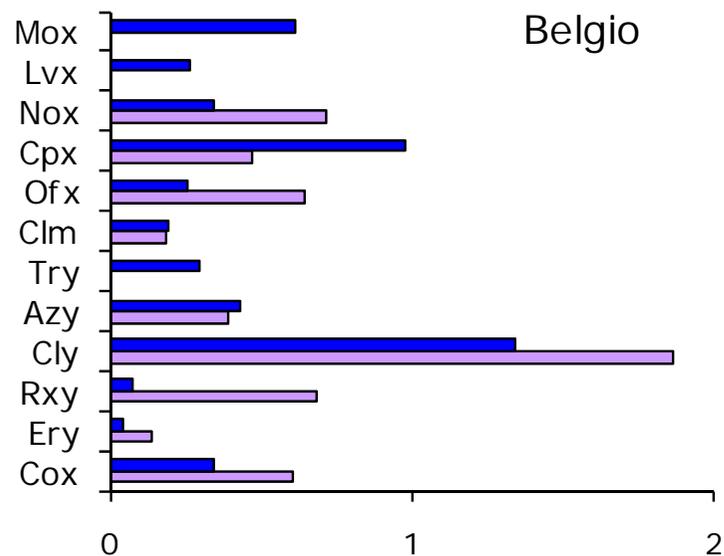
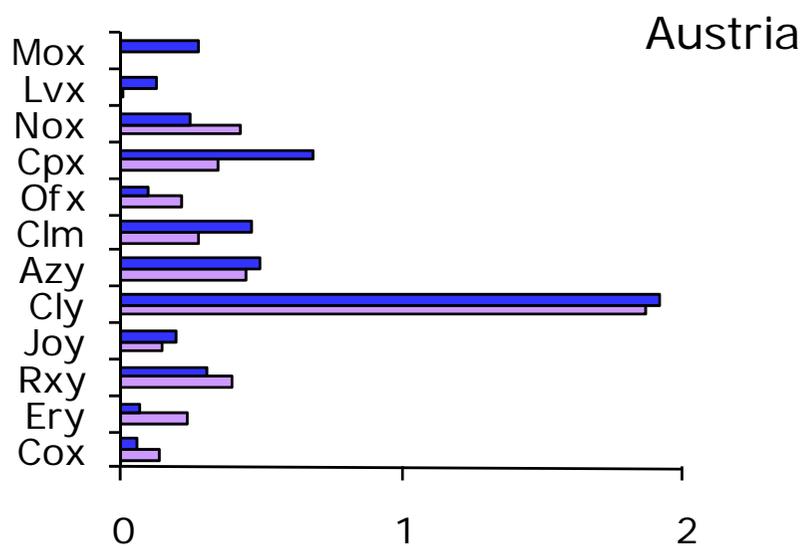
**Figura 6.** Consumo di antibiotici suddivisi sulla base delle evidenze: confronto tra il 1998 ed il 2005. I paesi sono stati classificati sulla base dell'entità dei consumi totali riferiti al 1998. Percentuale: gruppo E/consumo totale. Tra parentesi le modificazioni per gli antibiotici del gruppo E (valori assoluti); + = aumento dei consumi; - = riduzione dei consumi.

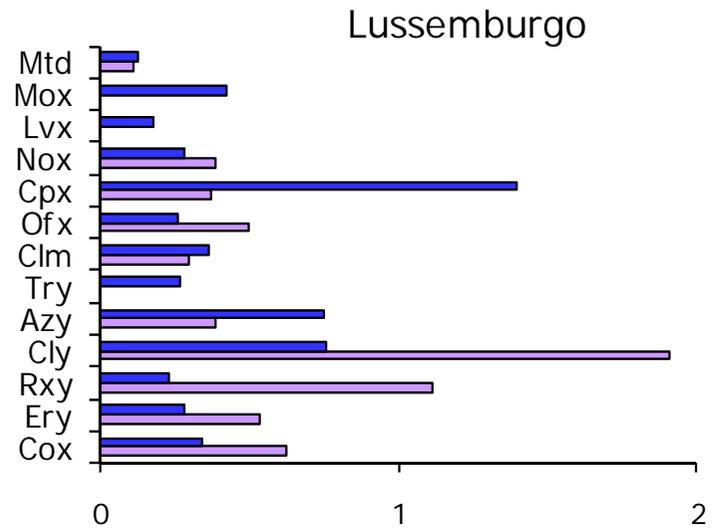
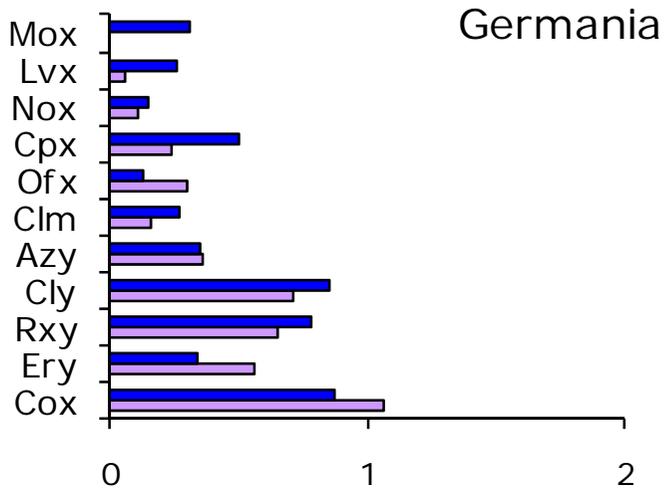
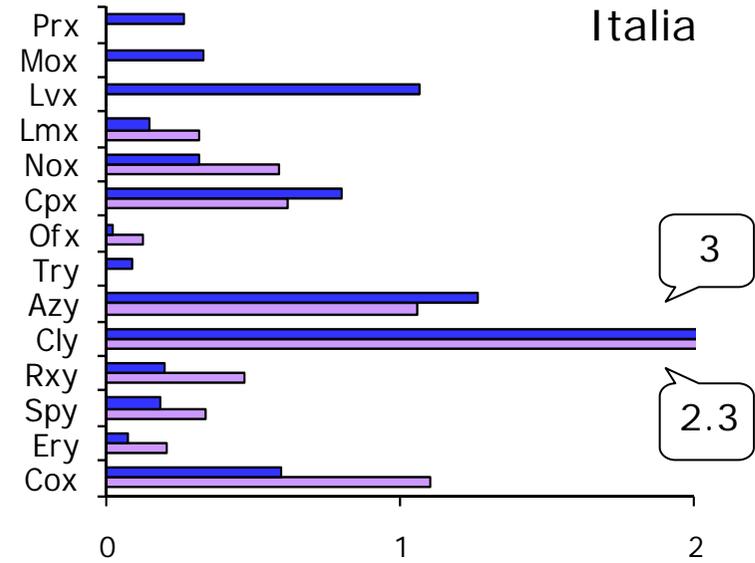
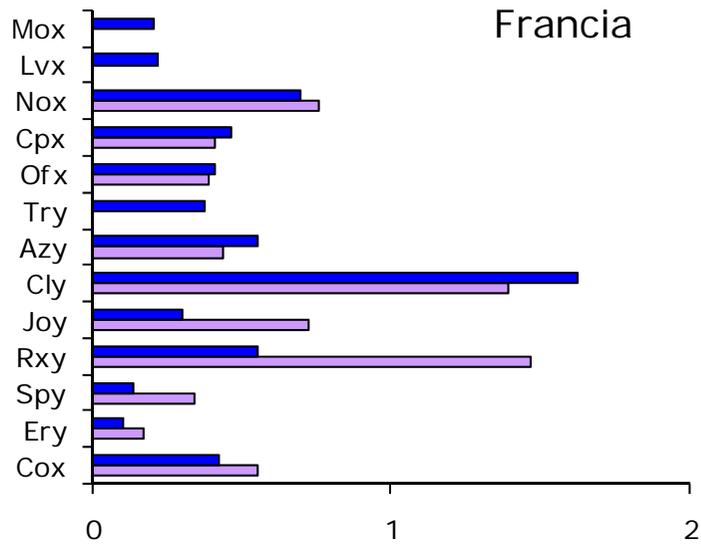


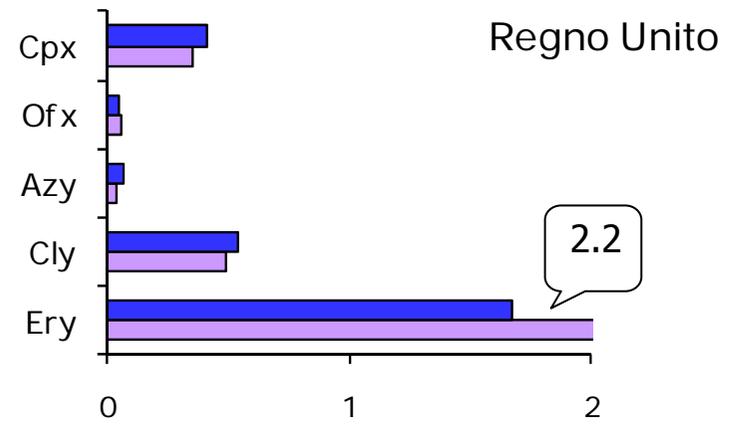
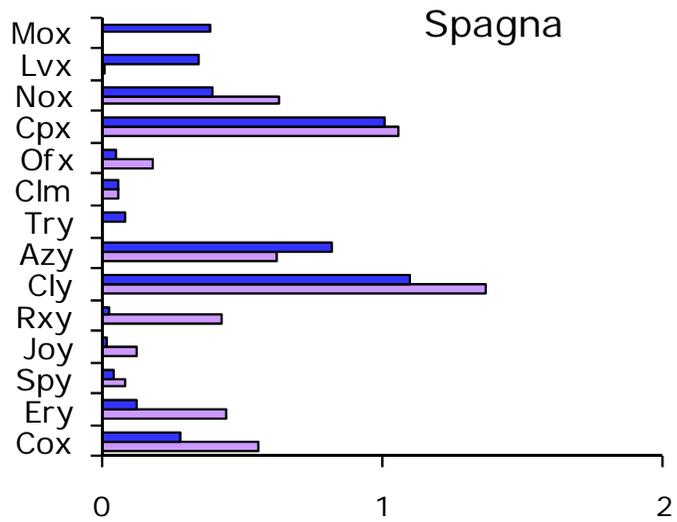
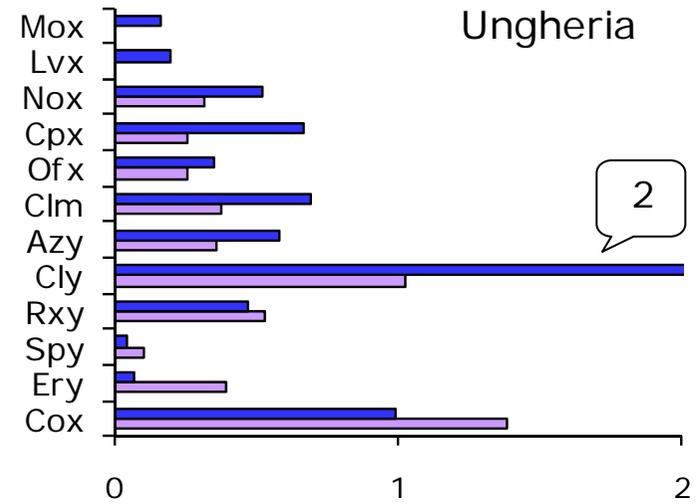
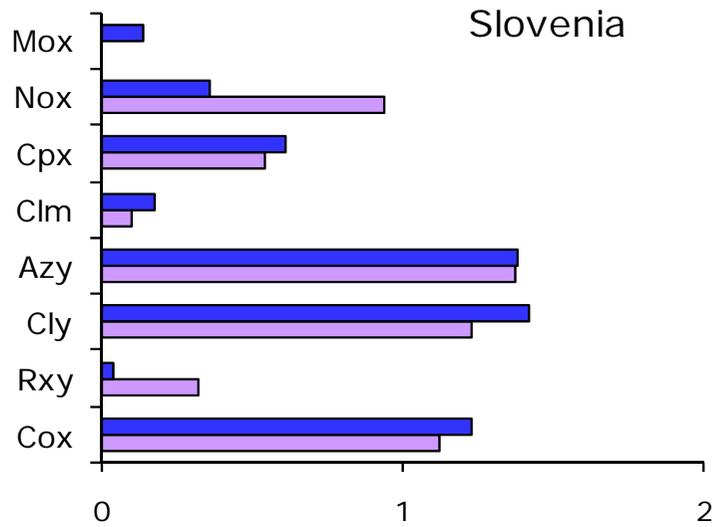
**Figura 7.** Consumi individuali di ciascun antibatterico con evidenze di TdP nei 14 paesi Europei: confronto tra il 1998 ed il 2005 (in ascissa DID). Sono stati messi in evidenza gli antibatterici con un consumo superiore a 2 DID mentre quelli con consumi inferiori ad 0.1 DID non sono presentati. Si notino le evidenti differenze di consumo, in termini quantitativi, tra paesi del Nord e Sud Europa (rispettivamente nella prima e seconda parte del grafico).

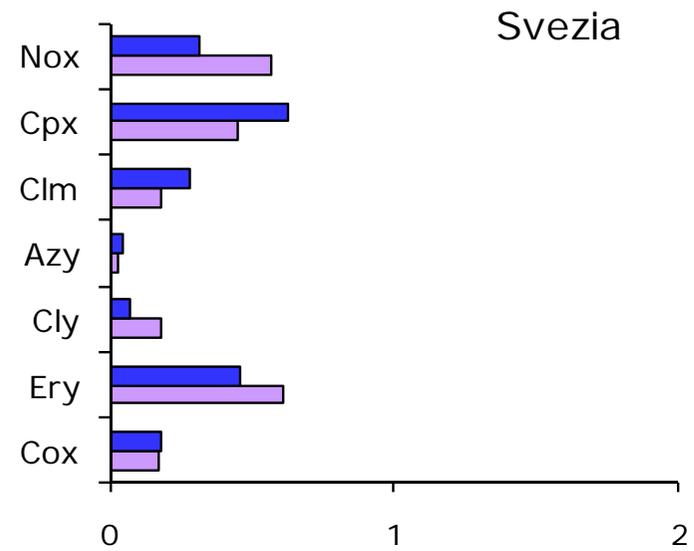
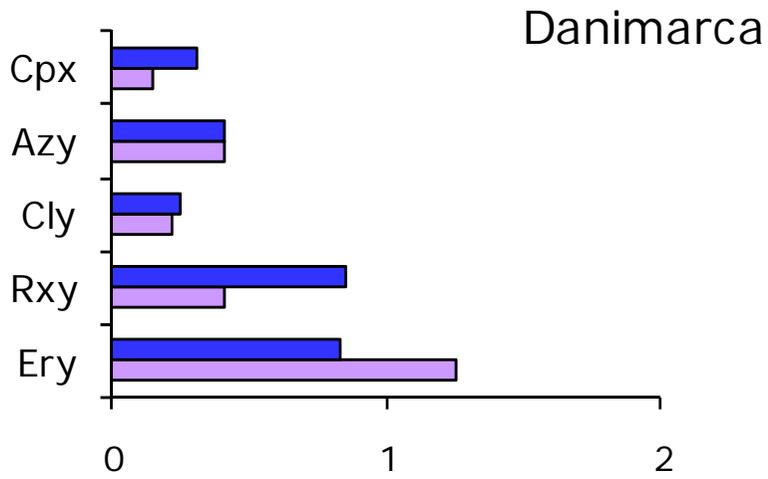
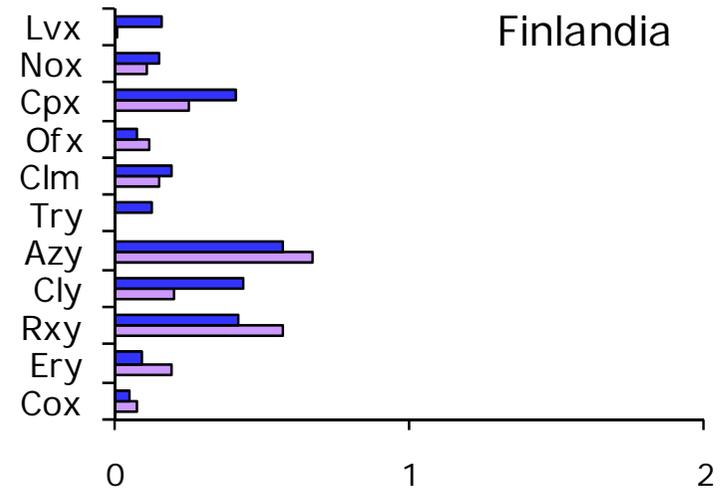
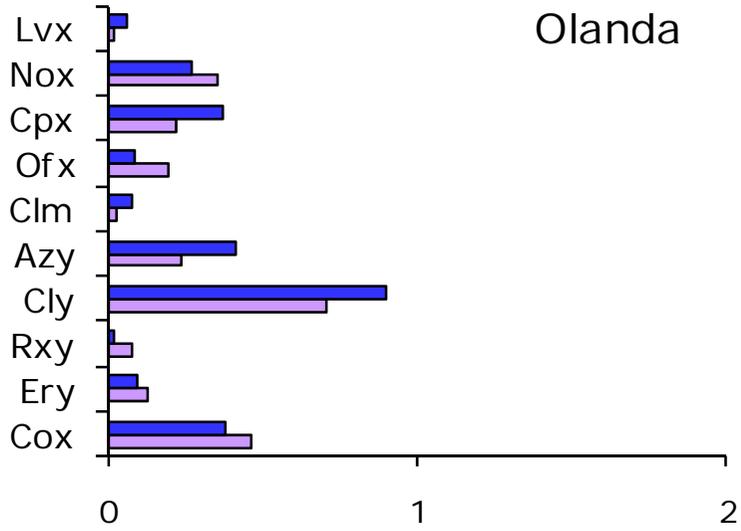
Mtd: metronidazolo; Mox: moxifloxacina; Prx: prulifloxacina; Lvx: levofloxacina; Lmx: lomefloxacina; Gpx: grepafloxacina; Nox: norfloxacina; Cpx: ciprofloxacina; Ofx: ofloxacina; Clm: clindamicina; Try: telitromicina; Azy: azitromicina; Cly: claritromicina; Joy: josamicina; Rxy: roxitromicina; Ery: eritromicina; Cox: cotrimossazolo.

■ 2005    ■ 1998









## 2.4 Discussione

Numerose considerazioni emergono dai risultati sopra esposti. Innanzitutto, si nota nel corso degli anni un aumento considerevole del numero degli antibiotici con evidenze pubblicate di TdP o prolungamento dell'intervallo QT. Tale incremento va interpretato alla luce non solo di nuove conoscenze per farmaci già noti (es. levofloxacina), ma anche dalla recente introduzione di nuove molecole, come la moxifloxacina, telitromicina, prulifloxacina (commercializzata solo in Italia) e gemifloxacina (negli USA).

La seconda importante considerazione nasce dall'utilizzo non trascurabile degli antibatterici classificati come gruppo E (evidenze scientifiche più robuste), nonostante gli interventi regolatori nei confronti di una classe terapeutica costantemente sotto i riflettori. Il consumo ha chiaramente evidenziato un incremento nella finestra temporale analizzata, con le eccezioni dei paesi del Nord Europa (Danimarca, Svezia, Finlandia, Olanda), che hanno registrato una certa stabilità nel tempo. Si delinea pertanto una certa eterogeneità nell'entità dell'esposizione, con notevoli diversità tra i paesi del nord e sud Europa. Potremmo suddividere i 14 paesi in due grandi categorie: la prima include Danimarca, Finlandia, Olanda e Svezia, a bassa esposizione (consumo di antibatterici del gruppo E al di sotto di 2 DID); la seconda comprende i paesi rimanenti, ad alta esposizione.

Nella valutazione dei consumi, va necessariamente considerato anche il rapporto percentuale. Il parallelo tra Francia ed Austria è rappresentativo: pur avendo un consumo paragonabile in termini di valore assoluto (rispettivamente 3.2 e 3.6 DID nel 2005 per il gruppo E), gli stessi dati rappresentano, rispettivamente, l'11% ed il 25% del consumo totale di antibiotici.

Un provvedimento razionale, pur se difficilmente attuabile, dovrebbe spostare la prescrizione verso antibatterici più sicuri nei riguardi della TdP. A tal proposito, va ricordato come i  $\beta$  lattamici (penicilline e cefalosporine)

rappresentano tuttora farmaci di prima scelta nel trattamento di patologie dell'apparato respiratorio (primi fra tutti le polmoniti acquisite in comunità) e, ad oggi, non sono presenti evidenze di tossicità cardiaca pubblicate in letteratura.

Il trend temporale costantemente in aumento desta una certa preoccupazione in Italia, soprattutto per i principi attivi del gruppo E (6.5 DID nel 2005, +2.4 DID rispetto al 1998). Il consumo di claritromicina è a livelli notevoli (3 DID nel 2005). Le motivazioni non sono facilmente identificabili, ma è possibile che le diverse indicazioni terapeutiche (non ultima l'eradicazione dell'*Helicobacter pylori* nei pazienti con ulcera gastrica) possono almeno in parte aver contribuito al dato anomalo. Va inoltre ricordato che la claritromicina non solo possiede un'azione inibitoria sui canali K<sup>+</sup> hERG (il meccanismo principale della TdP indotta da farmaci), ma è nota anche come inibitore del citocromo CYP3A4, con possibili interazioni di natura farmacocinetica che contribuiscono a ridurre la riserva di ripolarizzazione. Il crescente utilizzo dei fluorochinoloni può essere spiegato con la tendenza attuale alla prescrizione degli antibiotici di nuova generazione, come levofloxacina e moxifloxacina, in seguito a pressioni commerciali.

Le implicazioni cliniche dello studio devono obbligatoriamente considerare i limiti della metodologia in esame, con particolare riferimento alla selezione ed analisi della letteratura (non scevra di *bias* di pubblicazione) e, soprattutto il dato di farmaco-utilizzazione, *marker* indiretto dell'esposizione della popolazione generale. Inoltre, non necessariamente un incremento nei consumi si tradurrà in un aumento del rischio (e dunque delle segnalazioni di TdP). Questa considerazione finale ha fornito il presupposto per estendere l'approccio farmaco-epidemiologico al campo della farmacovigilanza. Lo studio delle segnalazioni spontanee è particolarmente utile nella valutazione delle reazioni avverse a farmaci estremamente rare e può fornire utili elementi nella valutazione del rapporto rischio/beneficio.

## 2.5 Conclusioni

In conclusione, l'analisi della letteratura ha evidenziato un numero considerevole di antibatterici a rischio di TdP o prolungamento dell'intervallo QT (in particolar modo macrolidi e fluorochinoloni). Lo studio di farmacoutilizzazione ha rilevato una esposizione non trascurabile nella maggior parte dei paesi Europei, con incrementi consistenti in Italia ed Ungheria. Differenze significative nel *pattern* di utilizzo si palesano tra paesi del Nord e quelli del Sud Europa (rispettivamente a basso ed alto consumo). Da un punto di vista regolatorio, sarebbe opportuno approfondire le ragioni di tali discrepanze per migliorare l'appropriatezza d'uso, monitorando nello specifico i principi attivi a maggior rischio (gruppo E). Da un punto di vista clinico, il profilo di sicurezza cardiaca di ciascun antibatterico va opportunamente preso in esame, soprattutto quando si somministra il farmaco in paziente con fattori di rischio per l'insorgenza di TdP.

## **3. IL CONTRIBUTO DELLA FARMACOVIGILANZA**

### **3.1 Considerazioni generali**

La farmacovigilanza non è semplicemente un processo di mera e passiva segnalazione, ma una scienza multidisciplinare ed interdisciplinare in continuo sviluppo che mira ad un uso consapevole dei medicinali [145]. La nascita della *European Society of Pharmacovigilance* (ESOP, in seguito *International Society of Pharmacovigilance*, ISoP) nel 1992 ha sancito l'introduzione formale della farmacovigilanza nella realtà accademica e di ricerca, nonché nella pratica clinica quotidiana. L'elenco delle pietre miliari decreta i meriti e l'importanza degli studi post-marketing (fase IV di sviluppo di un farmaco). Nonostante le controversie ed i dibattiti sui limiti della segnalazione spontanea, la farmacovigilanza, nell'accezione più ampia del termine, rimane un pilastro fondamentale nell'identificazione delle reazioni avverse a farmaci [146]. Gli studi (metodi) di cui si avvale vanno distinti in due grandi categorie: i metodi "hypothesis-generating" e quelli "hypothesis-testing". Il primo gruppo include la segnalazione spontanea, il cui pregio principale consiste nella capacità di identificare precocemente un segnale di sicurezza.

#### *3.1.1 La definizione di "segnale" in farmacovigilanza*

L'etimologia del termine segnale è stato oggetto di numerosi fraintendimenti e discussioni, considerato i significati ed i contesti eterogenei in cui viene inserito [147]. Meyboom definì un segnale come un set di dati (statistici, clinici, farmacologici, epidemiologici) che costituiscono un'ipotesi rilevante per l'utilizzo sicuro e razionale di un farmaco nell'uomo [148]. La World Health Organization (WHO) definisce un segnale come una informazione resa nota su una possibile relazione causale tra un farmaco ed

una reazione avversa, precedentemente sconosciuta o non adeguatamente documentata. Generalmente, più di un caso è necessario [149]. Entrambe le definizioni condividono il concetto della imprevedibilità e novità della reazione avversa. È stata persino proposta la definizione di segnale di disproporzionalità ad enfatizzare una mera associazione statistica farmaco-reazione avversa al di fuori del relativo contesto clinico [150]. L'identificazione del segnale è un processo complesso in cui l'identificazione di una associazione sconosciuta, la valutazione del rapporto di causalità e la quantificazione dell'associazione sono strettamente correlati. Un concetto condiviso è che, indipendentemente dalla fonte di provenienza (studi di farmacovigilanza, clinici o pre-clinici), un segnale implica la necessità di ulteriori indagini ed approfondimenti per una corretta valutazione del rapporto di causalità.

Pertanto, una volta che il segnale è stato identificato ("hypothesis-generating"), altri metodi devono necessariamente confermare o smentire l'ipotesi di partenza ("hypothesis-testing"). La valutazione del segnale ("signal evaluation") viene pertanto descritta come un processo sequenziale che nasce come sospetto, deve essere interpretato alla luce delle conoscenze attuali e richiede dati a supporto. La quantificazione del segnale implica, in ultima analisi, l'integrazione e l'analisi bilanciata di differenti tecniche ed evidenze, non solo farmaco-epidemiologiche.

## **3.2 Obiettivo dello Studio**

Lo scopo principale di questa seconda parte del progetto di ricerca è stata pertanto l'identificazione dei segnali di TdP sulla base delle segnalazioni spontanee presenti nelle banche-dati internazionali di farmacovigilanza. Data l'estrema rarità della TdP indotta da farmaci, l'analisi delle segnalazioni spontanee rappresenta tuttora uno strumento utile ed ampiamente utilizzato nell'identificazione dei segnali precoci di sicurezza non altrimenti identificabili durante i trial clinici a causa della ridotta numerosità del campione indagato. La scelta è ricaduta sul database dell'Agenzia Regolatoria Americana della FDA. Tale archivio, noto come Adverse Event Reporting System (AERS), è pubblicamente accessibile e rappresenta, nel campo della farmacovigilanza, la fonte più ampia oggi disponibile. È stata pertanto testata l'applicabilità di un metodo già validato in letteratura alla banca-dati AERS: il metodo caso/non-caso [151].

## **3.3 Materiali e Metodi**

### *3.3.1 Estrazione delle segnalazioni di torsione di punta*

Il database AERS è uno strumento elettronico adottato dalla FDA per il monitoraggio della sicurezza post-marketing di tutti i medicinali e prodotti biologici presenti sul mercato. Tale banca-dati, creata nel 1964, contiene oltre 4 milioni di segnalazioni. Personale sanitario (medici, infermieri e farmacisti), ditte farmaceutiche e cittadini trasmettono volontariamente le reazioni avverse sospette tramite il programma MedWatch. Da segnalare come il database AERS contenga anche segnalazioni di origine non americana relative ad effetti avversi seri e non presenti in scheda tecnica. La FDA codifica tutte le segnalazioni mediante una terminologia internazionale standardizzata nota come MedDRA (the Medical Dictionary for Regulatory

<http://www.fda.gov/cder/aers/extract.htm>.

Sono state pertanto acquisite tutte le tabelle relative alle segnalazioni di reazioni avverse a farmaci nel periodo **Gennaio 2004 – Dicembre 2007**. Dal file "REACTION" sono state identificate le segnalazioni di "torsades de pointes". A ciascun report sono stati poi attribuiti i farmaci sospettati di aver indotto la reazione. È stato possibile identificare tali composti, all'interno del file "DRUG", come "primary suspect drug", "secondary suspect drug" o "interacting drug". La medesima segnalazione può pertanto essere associata a diversi principi attivi, a seconda del giudizio del segnalatore nell'attribuire il rapporto di causalità. A ciascuna specialità medicinale sono stati assegnati i nomi commerciali americani ed europei e la classificazione Anatomica Terapeutica Chimica (ATC), allo scopo di raggruppare le segnalazioni di TdP in base al relativo principio attivo.

### *3.3.2 Data mining delle segnalazioni spontanee*

La fase successiva della ricerca ha riguardato l'applicazione di algoritmi statistici di pertinenza della farmacovigilanza: il termine "data mining" viene oggi utilizzato a livello internazionale per definire questo tipo di analisi [152, 153]. L'indagine è stata condotta mediante il metodo caso/non caso, dove i "casi" sono rappresentati dalle segnalazioni di TdP ed i "non casi" da tutte le reazioni avverse a farmaci diverse dalla TdP [151].

A causa dell'origine eterogenea delle segnalazioni (operatori sanitari, cittadini, etc.), all'interno del database erano presenti duplicati e record multipli. La loro identificazione, e conseguente esclusione dall'analisi, è stata possibile combinando tra loro le informazioni disponibili circa il principio attivo, la data di inserimento nel database, il sesso e l'età del paziente, il paese di origine della segnalazione.

Il segnale è stato identificato mediante l'ausilio di un approccio quantitativo: il calcolo del *reporting odds ratio* (**ROR**) e relativo intervallo di confidenza al 95% (**95% CI**). L'ROR è un indice di disproporzionalità e rappresenta una misura della forza di associazione tra un farmaco e una reazione avversa segnalata (nel caso specifico la TdP), ma non necessariamente implica un reale rapporto di causalità [153-157]. Tale indice mette a confronto il rapporto casi/non casi per un determinato farmaco con il medesimo rapporto per tutti gli altri farmaci presenti all'interno del database (si veda la tabella di contingenza 2 x 2 qui di seguito riportata).

|   | <b>Segnalazione di TdP</b> | <b>Segnalazioni diverse dalla TdP</b> |
|---|----------------------------|---------------------------------------|
| <b>Segnalazione attribuita al farmaco</b>       | <b>a</b>                   | <b>b</b>                              |
| <b>Segnalazione attribuita ad altri farmaci</b> | <b>c</b>                   | <b>d</b>                              |

$$\text{ROR} = \frac{(a/c)}{(b/d)}$$

Si parla di **disproporzionalità** (segnale di disproporzionalità) qualora il limite inferiore del **95% CI > 1**. Data la possibile presenza di fattori di rischio, è stato calcolato anche l'ROR aggiustato. I farmaci antiaritmici sono un marker indiretto di una patologia cardiaca sottostante (aritmia) nota come fattore di rischio per l'insorgenza di TdP [4, 7]. La presenza di antiaritmici (i.e. amiodarone, azimilide, disopiramide, dofetilide, flecainide, ibutilide, mexiletina, propafenone, propranololo, quinidina e sotalol) tra i farmaci concomitanti è stata considerata come *proxy* di un'aritmia preesistente e scelta come fattore di rischio per il calcolo dell'ROR aggiustato. A tal fine, ci si è avvalsi del programma statistico Epi Info, versione 3.4.3-2007

(<http://www.cdc.gov/epiinfo/>). I farmaci associati a disproporzionalità sono stati discussi alla luce delle attuali evidenze (letteratura pubblicata e scheda tecnica attualmente in vigore).

### 3.3.3 Considerazioni metodologiche

La scelta dell'archivio è stata dettata da alcune considerazioni legate alle caratteristiche della reazione avversa analizzata. La TdP è un'aritmia estremamente rara che pertanto necessita di indagini su una popolazione ampia per un dato attendibile. I data-base internazionali sono pertanto la fonte di informazioni migliore sotto questo punto di vista e, nello specifico, l'archivio AERS presenta due caratteristiche rilevanti: (a) contiene dati provenienti da tutto il mondo (numerosità del campione) e (b) è pubblicamente accessibile (trasparenza).

Nella valutazione delle segnalazioni di reazioni avverse a farmaci si possono adottare due differenti approcci. Il primo riguarda l'uso di informazioni legate al consumo del farmaco (es. numero di prescrizioni o di vendite) allo scopo di calcolare un tasso, il cosiddetto *reporting rate*: numero di segnalazioni/numero di prescrizioni. Tuttavia, mettere a confronto due farmaci sulla pura base di un tasso è fuorviante e scorretto, considerato i numerosi fattori in gioco che potrebbero inficiare i risultati. Va ricordata, ad esempio, l'influenza del tempo di commercializzazione sulle segnalazioni di reazioni avverse (in modo particolare un incremento del numero di segnalazioni nei primi 18 mesi dall'entrata sul mercato del composto, il cosiddetto effetto Weber) [158]. Il secondo approccio prevede l'utilizzo del numero totale delle segnalazioni come *proxy* dell'utilizzo del farmaco. Questo metodo consente di paragonare il profilo di sicurezza dei vari farmaci, non necessita di dati esterni e non risente in misura sostanziale dei *bias* legati alla segnalazione (o quantomeno tali *bias* si distribuiscono in modo uniforme consentendo una corretta interpretazione del dato) [159]. L'uso di questo

secondo approccio, definito quantitativo, ha preso progressivamente il sopravvento nell'identificazione dei segnali, grazie alla semplicità di calcolo e di interpretazione. In letteratura, un numero considerevole di metodi quantitativi è stato validato nell'identificazione dei segnali di sicurezza (**tabella 9**). Le valutazioni retrospettive sono risultate particolarmente utili nel testare la precisione del metodo, verificando la capacità di identificare segnali già noti [160]. Allo stato attuale delle conoscenze, non esiste un *gold standard* internazionale, pertanto, ciascuna Agenzia Regolatoria od ente di ricerca adotta la metodica più pratica e congeniale. Nel corso dell'ultima decade, vari modelli e metodi statistici (Bayesiani e non Bayesiani) sono stati proposti ed hanno riscosso largo consenso [153, 160-162]. Tra i primi vanno ricordati il *proportional reporting ratio* (PRR) [163] ed il *reporting odds ratio* (ROR) [151]. Tra i secondi meritano una citazione *Bayesian Propagation Neural Network analysis* (BCPNN) di Uppsala [164]. Van Puijenbroek ha messo a confronto diversi metodi quantitativi nell'identificazione del segnale, riscontrando una sostanziale concordanza in termini di sensibilità, specificità e predittività [165]. Nonostante il razionale e le tecniche statistiche e matematiche possano differire, anche sostanzialmente, tra i vari approcci, la disproporzionalità rappresenta il denominatore comune. In altre parole, rispondono tutti alla domanda: il numero delle segnalazioni osservate (casi) è superiore al numero di quelle attese? Tutte le valutazioni statistiche della disproporzionalità sono un indice della forza dell'associazione farmaco-reazione avversa nei confronti degli altri farmaci presenti nel data-base. Le altre reazioni avverse (non-casi) vengono utilizzate come *proxy* di incidenza delle reazioni avverse.

La scelta dell'ROR è stata dettata da alcune considerazioni pratiche; si tratta di un indice trasparente, facilmente calcolabile ed interpretabile, con la possibilità di "correggere" ed eventualmente stratificare l'analisi sulla base di covariabili o fattori di confondimento, elemento quest'ultimo non secondario

se si considera le caratteristiche della TdP (si veda il concetto della *repolarization reserve* illustrato nel capitolo 1. Introduzione). Il vantaggio aggiuntivo risiede nel fatto che, utilizzando l'intero archivio, il problema della sottosegnalazione interessa in maniera omogenea tutti i principi attivi e pertanto il calcolo dell'ROR non ne risente in misura sostanziale. È stato suggerito come l'ROR possa stimare il rischio relativo di un farmaco qualora un archivio di segnalazioni venga visto come strumento per uno studio caso-controllo [166]. Per contro, in alcune circostanze (es. reazioni avverse specificatamente associate ad un determinato farmaco) l'ROR non può essere calcolato data l'assenza di dati nelle celle b e c della tabella di contingenza.

La scelta di una specifica situazione medica (segnalazioni di TdP) ha permesso di indagare un *endpoint* clinico primario. Si è deciso di evitare l'inclusione di *marker* surrogati come il prolungamento dell'intervallo QT così da migliorare la specificità del segnale.

Un'interpretazione corretta dei risultati deve necessariamente tenere in considerazione i limiti propri della segnalazione spontanea e del metodo del caso/non-caso: (a) qualità globale del dato (duplicati e dati mancanti che precludono un corretta attribuzione del nesso di causalità), (b) sottosegnalazione generalizzata, (c) eccessiva segnalazione legata all'effetto mediatico o a provvedimenti regolatori (il cosiddetto *notoriety bias*), (d) dipendenza della segnalazione dall'entrata in commercio del farmaco, con un picco nelle segnalazioni nei primi 18 mesi (il cosiddetto effetto Weber) [158, 167-171]. Inoltre, come discusso in precedenza, un segnale non implica necessariamente un rapporto di causalità e richiede ulteriori approfondimenti [153, 154, 172]. inoltre, piccole differenze tra gli ROR non implicano reali diversità in termini di rischio nella pratica clinica ed esistono controversie sulla possibilità di paragonare il profilo di sicurezza dei diversi farmaci sulla mera base dei valori dell'ROR. La TdP viene definita come un evento "multi hit", che richiede la simultanea e sinergica presenza di multipli fattori [7].

Sebbene uno dei fattori di rischio principali sia stato tenuto in considerazione nell'analisi (concomitante somministrazione di farmaci antiaritmici), non può essere esclusa l'influenza di ulteriori variabili di confondimento che tuttavia, date le caratteristiche dell'archivio, non sono state specificatamente valutate. Va tuttavia ricordato che le correzioni o stratificazioni multiple vengono raramente utilizzate negli studi di farmacovigilanza poiché possono mascherare la corretta identificazione di un segnale [173, 174].

**Tabella 9.** Caratteristiche dei principali indici di disproporzionalità utilizzati come approccio quantitativo nell'identificazione dei segnali.

| <b>Indice di disproporzionalità</b> | <b>Condizioni</b>   | <b>Vantaggi</b>   | <b>Limiti</b>  |
|-------------------------------------|---|---|--|
| <i>Metodi non Bayesiani</i>         |   |   |  |
| ROR                                 | Celle a, b, c e d devono necessariamente contenere reports per il calcolo | Facilmente applicabile<br>Agevole interpretazione<br>Possibilità di correggere per fattori di confondimento<br>Utile anche nell'analisi delle interazioni farmacologiche e delle sindromi | Risultati non sempre attendibili (intervallo di confidenza non calcolabile) in caso di ridotta numerosità delle segnalazioni |
| PRR                                 | Celle a e c devono contenere reports per il calcolo                       | Facilmente applicabile<br>Agevole interpretazione   | Analoghi all'ROR   |
| Chi quadro (correzione di Yates)    | Nessuna   | Sempre applicabile  | Difficile interpretazione  |
| Yules Q                             | Nessuna   | Sempre applicabile  | Difficile interpretazione  |
| <i>Metodi Bayesiani</i>             |   |   |  |
| IC (information component)          | Nessuna   | Sempre applicabile  | Relativamente non trasparente e di difficile valutazione ad operatori non famigliari con la statistica Bayesiana             |
| Poisson                             | Solo per eventi rari  | Sempre applicabile<br>Possibilità di correggere per fattori di confondimento  | Fornisce solamente un <i>p-value</i>   |

### 3.4 Risultati

Nell'arco temporale di 4 anni, dal database AERS sono stati raccolti 1.301.839 reports di reazioni avverse a farmaci. Sono state identificate 1665 segnalazioni di TdP associate a **376 principi attivi** (riportati come farmaci sospetti o interagenti). L' 80% delle segnalazioni di TdP è stata effettuata da parte di operatori sanitari. Dopo aver escluso i dati mancanti, presenti nel 40% dei reports, la metà circa proviene da paesi Europei, un terzo ha origine americana ed il 13% dal Giappone. La **tabella 10** riassume le informazioni relative a 35 farmaci con almeno 10 segnalazioni di TdP, classificati sulla base della numerosità dei casi. Il farmaco associato al maggior numero di segnalazioni di TdP è risultato l'amiodarone (113), seguito dal metadone (83), levofloxacina (61), fluconazolo (48), sotalolo (46) e moxifloxacina (41).

Valori estremamente elevati di ROR sono stati ottenuti per gli antiaritmici di classe I e III (es., amiodarone: ROR 27.2, 95% CI 22.3-33.2; sotalolo: 62.9, 45.6-86.6). Da notare la consistente disproporzionalità emersa per fluconazolo (ROR aggiustato 72.9, 95% CI 53.7-102.4), sevoflurano (57.8, 32.1-109.1) e metadone (48.5, 38.6-62.1).

Antibatterici (levofloxacina, moxifloxacina, ciprofloxacina, gatifloxacina, azitromicina e claritromicina), antipsicotici (ziprasidone, aloperidolo, risperidone e quetiapina) ed antidepressivi (citalopram, fluoxetina, paroxetina e mirtazapina) sono risultate le classi terapeutiche maggiormente segnalate: significative differenze, sia nel numero delle segnalazioni che nei valori dell'ROR, sono tuttavia evidenti tra i diversi composti della medesima classe farmacologica. La **figura 8** evidenzia la distribuzione eterogenea di antipsicotici ed antidepressivi in rapporto ai valori dell'ROR.

Valori statisticamente significativi di ROR sono stati ottenuti anche per numerosi farmaci aventi indicazioni cardiovascolari diverse da quella di antiaritmico: furosemide, digossina, metoprololo, bisoprololo, indapamide e

verapamil. Per ognuno di questi la significatività dell'ROR si è mantenuta anche dopo l'aggiustamento.

Infine è stata evidenziata una disproporzionalità significativa anche per composti come donepezil (ROR aggiustato 5.9, 95% CI 3.1-10.9), famotidina (7.9, 4.2-14.3) e mitoxantrone (7.5, 3.8-14.5).

**Tabella 10.** Sintesi dei risultati relativi ai 35 composti con almeno 10 segnalazioni di TdP.

| <b>ATC</b> | <b>farmaco</b> | <b>casi</b> | <b>non casi</b> | <b>ROR</b> | <b>95% CI</b> | <b>ROR<br/>aggiustato</b> | <b>95% CI</b> | <b>Anno di<br/>approvazione in USA</b> |
|------------|----------------|-------------|-----------------|------------|---------------|---------------------------|---------------|--|
| B01BD01    | amiodarone     | 113         | 2222            | 27.2       | 22.3-33.2     | n.a.                      | n.a.          | 1985                                   |
| A03FA02    | metadone       | 83          | 1169            | 37.3       | 29.5-47.2     | 48.5                      | 38.6-62.1     | 1947                                   |
| J01MA12    | levofloxacina  | 61          | 2806            | 11.3       | 8.6-14.7      | 13.1                      | 10.0-17.1     | 1996                                   |
| J02AC01    | fluconazolo    | 48          | 400             | 61.8       | 45.1-84.5     | 72.9                      | 53.7-102.4    | 1990                                   |
| C07AA07    | sotalolo *     | 46          | 376             | 62.9       | 45.6-86.6     | n.a.                      | n.a.          | 1992                                   |
| J01MA14    | moxifloxacina  | 41          | 1912            | 11.0       | 7.9-15.2      | 12.5                      | 9.0-17.4      | 1999                                   |
| C03CA01    | furosemide #   | 39          | 2018            | 9.9        | 7.1-13.8      | 7.6                       | 5.3-10.4      | 1966                                   |
| J01MA02    | ciprofloxacina | 32          | 2273            | 7.2        | 5.0-10.3      | 8.0                       | 5.4-11.4      | 1987                                   |
| C01BD04    | dofetilide *   | 30          | 473             | 32.3       | 21.8-47.5     | n.a.                      | n.a.          | 1999                                   |
| C01AA05    | diossina #     | 28          | 1116            | 12.8       | 8.6-18.9      | 7.9                       | 5.2-11.7      | 1982                                   |
| N05AE04    | ziprasidone    | 28          | 991             | 14.4       | 9.6-21.3      | 18.3                      | 12.3-27.3     | 2001                                   |
| J01FA10    | azitromicina   | 20          | 1548            | 6.5        | 4.1-10.4      | 7.8                       | 4.9-12.5      | 1991                                   |
| N05AD01    | aloperidolo    | 19          | 1596            | 6.0        | 3.7-9.6       | 7.4                       | 4.6-12.0      | 1967                                   |
| J01FA09    | claritromicina | 19          | 1476            | 6.5        | 4.0-10.4      | 7.5                       | 4.6-12.1      | 1991                                   |
| J01MA16    | gatifloxacina  | 18          | 1416            | 6.4        | 3.9-10.4      | 6.9                       | 4.2-11.2      | 1999                                   |
| C01BC04    | flecainide *   | 17          | 243             | 35.4       | 20.9-59.1     | n.a.                      | n.a.          | 1985                                   |
| N05AX08    | risperidone    | 17          | 3796            | 2.3        | 1.4-3.7       | 2.9                       | 1.7-4.7       | 1993                                   |

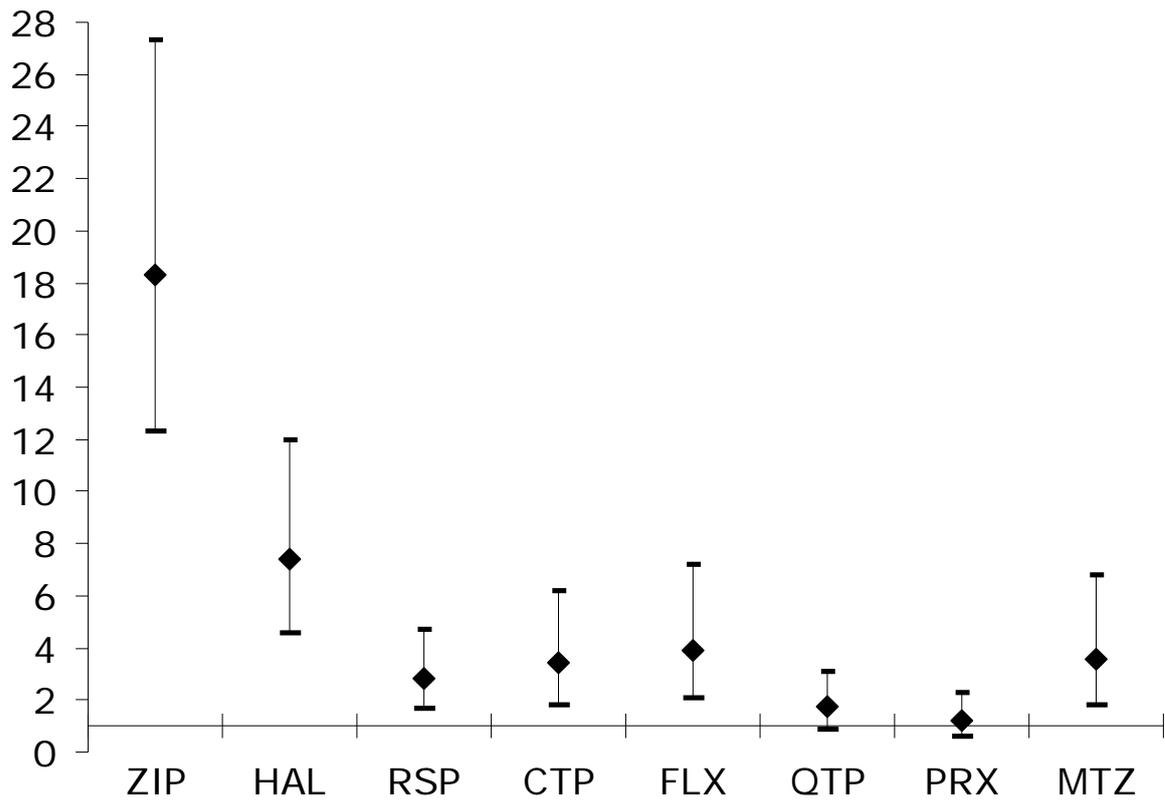
**Continuazione**

|         |                |    |      |       |            |      |            |      |
|---------|----------------|----|------|-------|------------|------|------------|------|
| J02AC03 | voriconazolo   | 17 | 756  | 11.4  | 6.8-18.8   | 13.1 | 7.7-21.6   | 2002 |
| C07AB02 | metoprololo #  | 14 | 1194 | 5.9   | 3.3-10.2   | 5.6  | 3.1-9.7    | 1978 |
| A02BC01 | omeprazolo     | 14 | 3276 | 2.2   | 1.2-3.7    | 1.7  | 1.0-3.0    | 1989 |
| N01AX10 | propofol       | 13 | 866  | 7.6   | 4.2-13.4   | 8.0  | 4.5-14.5   | 1989 |
| N01AB08 | sevoflurano    | 13 | 143  | 45.8  | 24.8-83.1  | 57.8 | 32.1-109.1 | 1995 |
| N06AB04 | citalopram     | 12 | 2032 | 3.0   | 1.6-5.4    | 3.4  | 1.8-6.2    | 1998 |
| A02BA03 | famotidina     | 12 | 942  | 6.4   | 3.5-11.6   | 7.9  | 4.2-14.3   | 1986 |
| N06AB03 | fluoxetina     | 12 | 1762 | 3.4   | 1.9-6.2    | 3.9  | 2.1-7.2    | 1987 |
| N05AH04 | quetiapina     | 12 | 4301 | 1.4   | 0.8-2.5    | 1.7  | 0.9-3.1    | 1997 |
| N06DA02 | donepezil      | 11 | 1031 | 5.4   | 2.8-10.0   | 5.9  | 3.1-10.9   | 1996 |
| N02AB03 | fentanil       | 11 | 4583 | 1.2   | 0.6-2.2    | 1.5  | 0.8-2.7    | 1985 |
| N06AB05 | paroxetina     | 11 | 5468 | 1.0   | 0.5-1.9    | 1.2  | 0.6-2.3    | 1992 |
| C07AB07 | bisoprololo #  | 11 | 555  | 9.1   | 4.6-17.4   | 6.4  | 3.2-12.4   | 1992 |
| C01BA03 | disopiramide * | 10 | 42   | 119.8 | 56.4-248.1 | n.a. | n.a.       | 1977 |
| C03BA11 | indapamide #   | 10 | 205  | 24.6  | 12.3-47.7  | 19.5 | 9.7-39.4   | 1983 |
| N06AX11 | mirtazapina    | 10 | 1673 | 3.0   | 1.5-5.8    | 3.5  | 1.8-6.8    | 1996 |
| L01DB07 | mitoxantrone   | 10 | 883  | 5.7   | 2.9-10.9   | 7.5  | 3.8-14.5   | 1987 |
| C08DA01 | verapamil #    | 10 | 929  | 5.4   | 2.7-10.4   | 5.2  | 2.6-10.1   | 1984 |

\* farmaci utilizzati come antiaritmici; # farmaci con indicazione cardiovascolare diversa da quella di antiaritmico.

n.a. = non applicabile

**Figura 8.** Distribuzione dei valori di ROR aggiustato e dei relativi intervalli di confidenza (95% CI) tra antipsicotici ed antidepressivi. ZIP: ziprasidone; HAL: aloperidolo; RSP: reserpina; CTP: citalopram; FLX: fluoxetina; QTP: quetiapina; PRX: paroxetina; MTZ: mirtazapina.



### 3.5 Discussione

Il database AERS utilizzato dalla FDA rappresenta probabilmente l'unica attuale possibilità, a livello internazionale, di avere pubblico accesso ad un ampio set di dati. Tale politica di trasparenza è ampiamente condivisibile e auspicabile anche per database locali ad europei come Eudravigilance: l'analisi indipendente di ricercatori esterni permette infatti un utile sinergismo nel processo di identificazione di segnali precoci di allarme associati all'uso dei farmaci. La scelta di limitare all'analisi ai farmaci con almeno 10 segnalazioni di TdP è legata agli obiettivi dello studio, disegnato per testare l'applicabilità di un metodo già validato all'archivio internazionale AERS.

L'analisi condotta sulla banca-dati AERS ha portato all'identificazione di numerosi composti associati a disproporzionalità statisticamente significativa. Tali farmaci possono essere suddivisi sulla base delle evidenze disponibili in due distinte categorie:

**1. un primo gruppo**, quantitativamente il più numeroso, include classi terapeutiche (es. antiaritmici, antibatterici, antifungini, antipsicotici, antidepressivi, anestetici e metadone) per le quali il segnale era atteso considerata l'ampia letteratura scientifica a supporto ("expected").

**2. un secondo gruppo**, comprendente famotidina, donepezil e mitoxantrone, la cui disproporzionalità era inattesa, a causa della scarsa e infondata documentazione in letteratura ("unexpected").

I risultati preliminari di questo studio devono necessariamente essere interpretati con prudenza, soprattutto alla luce dei limiti legati alla segnalazione spontanea e al metodo del caso/non-caso: (a) qualità globale del dato (duplicati e dati mancanti che precludono un corretta attribuzione del nesso di causalità), (b) sottosegnalazione generalizzata, (c) eccessiva segnalazione legata all'effetto mediatico o a provvedimenti regolatori (il cosiddetto *notoriety bias*), (d) dipendenza della segnalazione dall'entrata in commercio del farmaco, con un picco nelle segnalazioni nei primi 18 mesi (il

cosiddetto effetto Weber) [158, 167-171]. Inoltre, come discusso in precedenza, un segnale non implica necessariamente un rapporto di causalità e richiede ulteriori approfondimenti [153, 154, 172]. Tuttavia, la segnalazione spontanea rappresenta tuttora lo strumento più appropriato nell'identificazione dei segnali, soprattutto di fronte a reazioni avverse estremamente rare come la TdP. Inoltre la sensibilità del metodo è dimostrata dall'ROR di antiaritmici di classe III, da tempo noti per il rischio pro-aritmico [175] e pertanto importanti come controllo positivo nella validazione della fonte utilizzata.

Una considerazione a se stante meritano quelle classi di composti con indicazione cardiovascolare diversa da quella di antiaritmici (es. digossina, diuretici ed antagonisti dei recettori  $\beta$ -adrenergici). In questo caso, il segnale di disproporzionalità scaturito deve essere interpretato alla luce dello *status* clinico dei pazienti: scompenso cardiaco, squilibri elettrolitici (es. ipokaliemia indotta dal diuretico) e concomitante polifarmacoterapia. Tali condizioni rappresentano *per se* fattori di rischio per l'insorgenza di TdP già da tempo noti in letteratura, indipendentemente dalla somministrazione di farmaci con potenziale pro aritmico [4, 31].

Tra i farmaci non cardiovascolari come antibatterici, antimicotici and antipsicotici, le evidenze supportano i risultati dello studio e rafforzano l'importanza di un attento monitoraggio nella pratica clinica [7, 176-185]. È degno di nota che, in Italia, la scheda tecnica dell'alooperidolo è stata recentemente revisionata e definisce l'obbligatorietà di un elettrocardiogramma prima e durante il trattamento farmacologico, indipendentemente dalla via di somministrazione. L'FDA ha predisposto persino un *warning* sul rischio di TdP, particolarmente quando il farmaco viene somministrato per via endovenosa. Riguardo gli antidepressivi, i risultati sono in linea con recenti studi di farmacovigilanza che documentano 9 segnalazioni di TdP da citalopram nella banca-dati svedese [186]. Come

riportato nella scheda tecnica, un rischio reale è improbabile alle dosi terapeutiche, ma va seriamente preso in esame in situazioni di overdose. In analogia, il dato del metadone è chiaramente a sostegno delle attuali evidenze [187] ma ancora non riceve dovuta considerazione in campo medico [188]. Da un punto di vista strettamente regolatorio, è stato recentemente pubblicato un documento sulla necessità di monitoraggio dell'intervallo QT che è tuttora argomento di dibattito [189-193].

Riguardo la seconda categoria di composti, è stata ipotizzata la presenza di fattori di confondimento diversi dalla concomitante somministrazione di antiaritmici (es. l'indicazione terapeutica) [194]. Pertanto sono stati analizzati nel dettaglio ed individualmente le segnalazioni legate ai 3 principi attivi: la cosiddetta *case-by-case analysis*. La revisione manuale delle singole segnalazioni non ha tuttavia evidenziato possibili fattori di confondimento.

Nel caso di **famotidina**, la scheda tecnica non menziona la TdP in alcuna sezione. Inoltre, in letteratura sono stati pubblicati solo 3 case reports di TdP da famotidina e le evidenze pre-cliniche appaiono negative [195-197]. Il significato di un segnale per un farmaco ampiamente utilizzato e a lungo sul mercato come la famotidina è materia di dibattito: nonostante l'assenza sin d'ora di segnalazioni sia quantomeno rassicurante, il dato va interpretato considerando il miglioramento nella segnalazione spontanea nel corso dell'ultima decade (in termini di qualità, raccolta ed analisi dei dati). Spetterà alle Agenzie Regolatorie locali chiedere chiarimenti ed intraprendere eventuali misure in merito.

Le 11 segnalazioni di **donepezil** meritano un commento. Il farmaco viene utilizzato per il trattamento della demenza nei pazienti affetti da malattia di Parkinson, pertanto l'assunzione contemporanea di antipsicotici per contrastare i sintomi comportamentali potrebbe aver contribuito al segnale. Anche dopo una attenta revisione manuale delle singole segnalazioni, non sono stati identificati possibili fattori di confondimento. Una recente analisi

della banca dati Australiana Australian Drug Reaction Advisory Committee (ADRAC) non ha evidenziato casi di TdP, ma piuttosto 17 segnalazioni di bradiaritmia [198]. Va tuttavia segnalato che, in seguito alla pubblicazione dei dati ivi presentati, sono comparsi in letteratura 3 *case reports* di TdP da donepezil di provenienza giapponese [199, 200]. È degno di nota che la valutazione individuale delle segnalazioni presenti nel database AERS ha rivelato l'assenza di farmaci concomitanti. Inoltre la maggior parte delle segnalazioni proviene dal Giappone. Pertanto sarà importante approfondire il *pattern* di utilizzo del donepezil sia a livello europeo che extra-europeo.

I 10 casi di TdP da **mitoxantrone** vanno interpretati con cautela. La letteratura a supporto della cardiotoxicità da mitoxantrone (nello specifico insorgenza di scompenso cardiaco) è estesa [201]. Inoltre la revisione individuale delle segnalazioni presenti nel database AERS ha constatato la concomitante somministrazione di antracicline, arsenico triossido e fluconazolo, farmaci noti per il rischio di TdP [7, 202]. Va pertanto considerata l'ipotesi di una interazione farmacologica.

Riguardo fentanyl ed omeprazolo, sebbene la disproporzionalità non sia statisticamente significativa, il numero di segnalazioni non va trascurato e potrebbe essere legato al sostanziale utilizzo del farmaco (omeprazolo) o alle complesse caratteristiche cliniche dei pazienti con multipli fattori di rischio (fentanyl).

### **3.6 Conclusioni**

Il database AERS della FDA rappresenta una risorsa importante nell'identificazione precoce dei segnali di TdP sulla sicurezza post-marketing dei farmaci. Il pubblico accesso ad ampie banche-dati potrà permettere un confronto trasparente tra ricercatori con lo scopo di migliorare la sorveglianza e dunque l'appropriatezza d'uso di farmaci potenzialmente pericolosi.

Nonostante i limiti della segnalazione spontanea, l'inatteso segnale associato a donepezil, famotidina e mitoxantrone necessita di ulteriore approfondimento per definire con esattezza il potenziale rischio pro-aritmico e, in generale, sul rapporto rischio-beneficio della singola molecola, anche alla luce delle alternative terapeutiche disponibili.

Il miglioramento degli algoritmi statistici, l'utilizzo di altre banche-dati (es. database della WHO) e ulteriori metodologie di studio (es. indagini osservazionali, studi caso-controllo, analisi approfondita della letteratura) rappresentano strumenti fondamentali per confermare i risultati preliminari di questo studio.

## 4. PERFEZIONAMENTO DEL SEGNALE

### 4.1 Obiettivo dello Studio

Il contributo della farmacovigilanza, come ampiamente descritto in precedenza nel capitolo 3, consiste per lo più nell'identificazione dei segnali precoci di allarme. Allo stato attuale delle conoscenze, tuttavia, l'analisi dei segnali di TdP non è stata ancora affrontata in maniera sistematica per una intera classe terapeutica. Una corretta valutazione ed interpretazione del segnale rappresentano inoltre il presupposto necessario per approfondire l'analisi e delineare il corretto profilo di sicurezza dei diversi farmaci. L'obiettivo è quello di definire un punto di partenza su cui strutturare gli *steps* successivi per una corretta stratificazione del rischio.

Sulla base di queste premesse, una volta testata l'applicabilità del metodo caso/non caso alla banca-dati AERS, l'ultima parte del progetto di tesi si è prefissa un duplice obiettivo: (a) focalizzare l'analisi sulla classe terapeutica dei farmaci antinfettivi (antimicrobici); (b) perfezionare ulteriormente l'identificazione del segnale. A tale scopo, le considerazioni metodologiche e l'approccio classico della farmacovigilanza sono stati rivisitati.

### 4.2 Materiali e Metodi

La banca-dati AERS è stata analizzata con un approccio sistematico, ampliando innanzitutto la finestra temporale dello studio: **Gennaio 2004 – Dicembre 2008**.

È stato creato un **primo archivio**, acquisendo tutte le tabelle relative alle segnalazioni di reazioni avverse a farmaci. Dal file "REACTION" sono stati identificati i report di "torsades de pointes". A ciascun report sono stati poi attribuiti i farmaci sospettati di aver indotto la reazione, selezionando all'interno del file "DRUG" quelli segnalati come "primary suspect drug", "secondary suspect drug" o "interacting drug". Dal file "DEMO" sono state

raccolte le informazioni relative alla data di inserimento nel database, sesso, età del paziente, paese e tipologia del segnalatore.

È stato creato successivamente un **secondo archivio** di anagrafica relativo a farmaci antinfettivi commercializzati in USA ed Europa, sia generici che *branded*. A tale fine, sono stati consultati 2 database internazionali pubblicamente accessibili ([www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm](http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm); <http://www.euromedstat.cnr.it/database/database.asp>). Tale archivio è stato successivamente incrociato con quello AERS. La classificazione Anatomica Terapeutica Chimica (ATC) è stata utilizzata come denominatore comune per codificare i farmaci antimicrobici per uso sistemico (J).

È stata perfezionata l'identificazione e la **rimozione dei duplicati** e record multipli, applicando un metodo automatico di record-linkage. Nello specifico, sono stati identificati ed esclusi dall'analisi quelle segnalazioni con una sovrapposizione in 4 campi chiave: la data di inserimento nel database, il sesso, l'età del paziente ed il paese di origine della segnalazione. Anche le segnalazioni sovrapponibili in 3 campi con un dato mancante sono state considerate come duplicati.

Allo scopo di identificare i potenziali **segnali**, è stato adottato il metodo quantitativo già utilizzato nel precedente studio: calcolo dell'ROR (con il 95% CI), crudo ed aggiustato per la concomitante somministrazione di farmaci antiaritmici (*proxy* di aritmia preesistente). Gli antimicrobici emersi dall'analisi (disproporzionalità statisticamente significativa) sono stati confrontati con la fonte più autorevole circa il rischio di TdP da farmaci: il sito web curato dalla Arizona Center of Education and Research on Therapeutics (CERT), dove periodicamente vengono aggiornate 3 categorie di farmaci sulla base delle evidenze scientifiche (<http://www.azcert.org>). Ogni classe definisce un livello di rischio. La categoria A comprende farmaci con rischio noto (es. gli antiaritmici); la categoria B identifica farmaci con rischio possibile (es.

numerosi fluorochinoloni); la categoria C include farmaci con rischio non definito (es. gli antidepressivi triciclici. Un segnale è stato pertanto definito come un farmaco associato a disproporzionalità ma non menzionato dall'Arizona CERT.

Con l'obiettivo di rifinire e migliorare l'identificazione dei segnali, è stato proposto un **approccio qualitativo** che tenga in considerazione il ruolo di farmaci concomitanti nell'attribuzione del nesso di causalità e le peculiarità della TdP. La necessità di una strategia qualitativa è legata infatti alla natura stessa della TdP, riconosciuta come "designated medical event": reazione avversa molto rara che, con elevata probabilità, è attribuibile ad un farmaco [203]. Pertanto, anche 2 o 3 segnalazioni senza evidenti fattori di rischio, farmaci concomitanti od altri fattori confondenti (nesso di causalità farmaco-reazione evidente) può costituire un segnale secondo il classico approccio della farmacovigilanza. In un'analisi successiva, per rifinire l'identificazione del segnale, sono stati individuati i farmaci con almeno 2 segnalazioni di TdP senza farmaci concomitanti riportati dall'Arizona CERT.

## 4.3 Risultati

### 4.3.1 *Analisi descrittiva*

Dal database AERS sono stati raccolti 1.743.234 reports di reazioni avverse a farmaci. La creazione dell'archivio di anagrafica farmaci ha consentito di riconoscere l'80% dei medicinali riportati nel database AERS. Dopo l'eliminazione dei duplicati, sono rimasti circa 990.000 records. Sono state successivamente analizzate 2.344.112 coppie farmaco-reazione ed identificati **374** farmaci **antinfettivi** con almeno una segnalazione di TdP (**tabella 11**): 230 casi per 28 antibatterici, 85 casi per 8 antifungini, 58 casi per 26 antivirali ed 1 caso per clofazimina (farmaco antilepromatoso).

Gli antibatterici maggiormente segnalati sono risultati levofloxacin (55), moxifloxacin (37), ciprofloxacina (35), claritromicina (22) e azitromicina (16). Tra gli antifungini e gli antivirali, fluconazolo (47), voriconazolo (17) lamivudina (8) e nelfinavir (6) hanno ricevuto il maggior numero di segnalazioni.

In media, il numero annuale di segnalazioni di TdP da farmaci antifettivi è di 75, con evidente variabilità negli anni presi in esame (es. 61 nel 2005 e 98 nel 2008). Il tasso di segnalazione si è ridotto progressivamente da 5,4 per 1000 reports totali nel 2004 a 3,2 per 1000 nel 2008, a causa dell'aumento significativo delle segnalazioni totali. Il 60% delle TdP è avvenuto in soggetti di  sesso femminile  (dato mancante nel 2%); il 55% aveva almeno 50 anni (dato mancante nel 14%).

#### *4.3.2 Identificazione dei segnali*

Tra i farmaci antibatterici, le classi maggiormente rappresentate sono risultate macrolidi (4 molecole) e fluorochinoloni (5 composti), molti dei quali associati a disproporzionalità. La distribuzione dei valori di ROR all'interno di una classe farmacologica è eterogenea (**figura 9**). Tra i macrolidi, la significatività statistica è stata ottenuta per eritromicina (ROR aggiustato = 7.2, 95%CI = 3.2–15.9), claritromicina (5.8, 3.7–8.9), azitromicina (4.8, 2.8–8.0) e telitromicina (2.7, 1.1–6.3). Tra i fluorochinoloni si segnalano moxifloxacin (9.0, 6.4–12.7), levofloxacin (7.6, 5.7–10.0), ciprofloxacina (6.5, 4.5–9.1) e gatifloxacin (5.7, 2.3–13.3). Ofloxacin ha ricevuto segnalazioni di TdP, senza tuttavia ottenere disproporzionalità significativa. Da notare come 8 antibatterici abbiano ricevuto almeno 2 segnalazioni senza tuttavia raggiungere la significatività statistica. A tal proposito si citano demeclociclina (2 casi, entrambi con farmaci concomitanti riportati dall'Arizona CERT), cotrimossazolo (7 casi, 2 senza co-medieazioni dell'Arizona CERT), ceftriaxone (5/3), piperacillina+tazobactam (4/2),

amoxicillina (3/0), meropenem (3/0), vancomicina (2/0) e metronidazolo (2/2). **linezolid (7 casi, ROR aggiustato = 2.8, 95%CI = 1.2-6.1) rappresenta il segnale.**

Tra gli antifungini, tutti i derivati triazolici e caspofungin hanno un ROR significativo: fluconazolo (ROR aggiustato = 14.2, 95%CI = 10.5-19.4), voriconazolo (8.5, 5.0-13.9), posaconazolo (8.4, 2.2-27.9), ketoconazolo (7.5, 1.3-31.0), itraconazolo (6.1, 2.8-12.7) e caspofungin (3.8, 1.2-10.7). Amfotericina B è stata riportata in 3 casi (tutti con farmaci concomitanti a rischio di TdP) senza disproporzionalità. **Caspofungin (4 casi) e posaconazolo (3 casi) rappresentano i segnali.**

Tra gli antivirali, solo indinavir (ROR aggiustato = 5.3, 95%CI = 1.4-17.2) e nelfinavir (4.5, 2.4-13.6) evidenziano disproporzionalità. Tra i principi attivi con almeno 2 segnalazioni da notare lamivudina (8 casi, 2 senza farmaci concomitanti a rischio), ritonavir (5/0), zidovudina (4/1), atazanavir (4/0), abacavir (3/1), stavudina (3/1), tenofovir (2/0) e ribavirina (2/0). **Indinavir (3 casi) e nelfinavir (6 casi) rappresentano i segnali.**

Riassumendo, l'approccio quantitativo ha identificato 5 segnali (linezolid, caspofungin, posaconazolo, indinavir e nelfinavir), quello qualitativo ha riconosciuto ulteriori 7 principi attivi con almeno 2 segnalazioni di TdP senza farmaci concomitanti menzionati dall'Arizona CERT: ceftriaxone, piperacillina+tazobactam, cotrimossazolo, metronidazolo, ribavirina, lamivudina e lopinavir+ritonavir.

**Tabella 11.** Sintesi dei risultati relativi ai farmaci antimicrobici con almeno 1 segnalazione di TdP.

**ANTIBATTERICI PER USO SISTEMICO**

|   | <b>casi</b> | <b>non<br/>casi</b> | <b>ROR</b> | <b>95% CI</b> | <b>ROR<br/>aggiustato</b> | <b>95% CI</b> | <b>Casi senza<br/>"QT drugs"<sup>1</sup></b> | <b>Arizona<br/>CERT<sup>2</sup></b> |
|---|-------------|---------------------|------------|---------------|---------------------------|---------------|--|-------------------------------------|
| <b><i>Tetracicline</i></b>              |             |                     |            |               |                           |               |  |                                     |
| Demeclociclina <sup>3</sup>             | 2           | 15                  | n.a.       | n.a.          | n.a.                      | n.a.          | -  | NR                                  |
| Doxyciclina                             | 1           | 1015                | 0.61       | 0.03-3.94     | 0.72                      | 0.04-4.70     | -  | NR                                  |
| Minociclina                             | 1           | 600                 | 1.03       | n.a.          | 1.26                      | 0.07-8.26     | 1  | NR                                  |
| <b><i>β-lattamici</i></b>               |             |                     |            |               |                           |               |  |                                     |
| Ampicillina                             | 1           | 254                 | 2.42       | n.a.          | 2.40                      | 0.12-16.01    | 1  | NR                                  |
| Amoxicillina                            | 3           | 2588                | 0.71       | n.a.          | 0.78                      | 0.20-2.50     | -  | NR                                  |
| Piperacillina+tazobactam                | 4           | 1332                | 1.85       | 0.59-5.09     | 2.16                      | 0.69-5.99     | 2  | NR                                  |
| Cefazolina                              | 1           | 812                 | 0.76       | -             | 0.82                      | 0.04-5.38     | -  | NR                                  |
| Ceftriaxone                             | 5           | 2182                | 1.41       | 0.52-3.50     | 1.31                      | 0.48-3.28     | 3  | NR                                  |
| <b><i>Carbapenemi</i></b>               |             |                     |            |               |                           |               |  |                                     |
| Meropenem                               | 3           | 657                 | 2.81       | 0.72-8.99     | 2.90                      | 0.73-9.24     | -  | NR                                  |
| <b><i>Sulfonamidi e trimetoprim</i></b> |             |                     |            |               |                           |               |  |                                     |
| Cotrimossazolo                          | 7           | 3525                | 1.22       | 0.53-2.64     | 1.42                      | 0.62-3.08     | 2  | C                                   |

**Continuazione (I)**

| <b><i>Macrolidi</i></b>       |    |      |      |            |      |            |    |    |
|-------------------------------|----|------|------|------------|------|------------|----|----|
| Eritromicina                  | 7  | 653  | 6.60 | 2.88-14.34 | 7.24 | 3.15-15.94 | 2  | A  |
| Claritromicina                | 22 | 2531 | 5.37 | 3.44-8.31  | 5.76 | 3.66-8.92  | 10 | A  |
| Azitromycina                  | 16 | 2406 | 4.10 | 2.42-6.84  | 4.76 | 2.81-7.98  | 11 | B  |
| Telitromicina                 | 6  | 1632 | 2.26 | 0.92-5.21  | 2.73 | 1.10-6.28  | 5  | B  |
| <b><i>Aminoglicosidi</i></b>  |    |      |      |            |      |            |    |    |
| Gentamicina                   | 1  | 763  | 0.81 | n.a.       | 0.75 | 0.04-4.89  | 1  | NR |
| Amikacina                     | 1  | 430  | 1.43 | n.a.       | 1.33 | 0.07-8.54  | -  | NR |
| <b><i>Fluorochinoloni</i></b> |    |      |      |            |      |            |    |    |
| Ofloxacina                    | 1  | 765  | 0.80 | n.a.       | 0.67 | 0.03-4.38  | -  | B  |
| Ciprofloxacina                | 35 | 3554 | 6.10 | 4.30-8.62  | 6.49 | 4.51-9.09  | 20 | C  |
| Sparfloxacina <sup>3</sup>    | 1  | 11   | n.a. | n.a.       | n.a. | n.a.       | -  | A  |
| Levofloxacina                 | 55 | 4990 | 6.86 | 5.20-9.04  | 7.58 | 5.70-9.95  | 42 | B  |
| Moxifloxacina                 | 37 | 2912 | 7.88 | 5.61-11.03 | 9.03 | 6.43-12.72 | 29 | B  |
| Gatifloxacina                 | 6  | 638  | 5.79 | 2.34-13.36 | 5.72 | 2.29-13.30 | 4  | B  |

**Continuazione (II)**

| <b><i>Glicopeptidi</i></b>        |   |      |      |           |      |            |   |    |
|-----------------------------------|---|------|------|-----------|------|------------|---|----|
| Vancomicina                       | 2 | 2459 | 0.50 | 0.09-2.02 | 0.48 | 0.08-1.94  | - | NR |
| Teicoplanina                      | 1 | 328  | 1.88 | n.a.      | 1.61 | 0.08-10.64 | - | NR |
| <b><i>Altri antibatterici</i></b> |   |      |      |           |      |            |   |    |
| Metronidazolo                     | 2 | 1864 | 0.66 | 0.11-2.66 | 0.64 | 0.11-2.59  | 2 | NR |
| Nitrofurantoina                   | 1 | 626  | 0.98 | n.a.      | 1.01 | 0.05-6.62  | 1 | NR |
| Daptomicina                       | 1 | 716  | 0.86 | n.a.      | 0.82 | 0.04-5.35  | 1 | NR |
| Linezolid                         | 7 | 1572 | 2.74 | 1.20-5.94 | 2.80 | 1.23-6.13  | 5 | NR |

## ANTIMICOTICI PER USO SISTEMICO

|                                  | <b>casi</b> | <b>non casi</b> | <b>ROR</b> | <b>95% CI</b> | <b>ROR<br/>aggiustato</b> | <b>95% CI</b> | <b>Casi senza<br/>QT drugs<sup>1</sup></b> | <b>Arizona<br/>CERT<sup>2</sup></b> |
|----------------------------------|-------------|-----------------|------------|---------------|---------------------------|---------------|--|-------------------------------------|
| <b><i>Antibiotici</i></b>        |             |                 |            |               |                           |               |  |                                     |
| Amfotericina B                   | 3           | 1097            | 1.68       | 0.43-5.37     | 2.02                      | 0.52-6.48     | -  | NR                                  |
| <b><i>Imidazolici</i></b>        |             |                 |            |               |                           |               |  |                                     |
| Ketoconazolo                     | 2           | 200             | 6.15       | n.a.          | 7.46                      | 1.29-30.98    | -  | C                                   |
| <b><i>Triazolici</i></b>         |             |                 |            |               |                           |               |  |                                     |
| Fluconazolo                      | 47          | 2229            | 13.12      | 9.70-17.69    | 14.23                     | 10.54-19.43   | 30   | C                                   |
| Itraconazolo                     | 8           | 973             | 5.07       | 2.35-10.46    | 6.11                      | 2.82-12.67    | 3  | C                                   |
| Voriconazolo                     | 17          | 1393            | 7.54       | 4.52-12.39    | 8.52                      | 5.03-13.94    | 6  | B                                   |
| Posaconazolo                     | 3           | 250             | 7.39       | 1.89-23.75    | 8.43                      | 2.17-27.89    | -  | NR                                  |
| <b><i>Altri antimicotici</i></b> |             |                 |            |               |                           |               |  |                                     |
| Flucitosina <sup>3</sup>         | 1           | 51              | n.a.       | n.a.          | n.a.                      | n.a.          | -  | NR                                  |
| Caspofungin                      | 4           | 667             | 3.69       | 1.18-10.19    | 3.80                      | 1.22-10.69    | 1  | NR                                  |
| <b><i>Antimicobatterici</i></b>  |             |                 |            |               |                           |               |  |                                     |
| Clofazimina <sup>3</sup>         | 1           | 35              | n.a.       | n.a.          | n.a.                      | n.a.          | -  | NR                                  |

**ANTIVIRALI PER USO SISTEMICO**

|                                       | <b>casi</b> | <b>non<br/>casi</b> | <b>ROR</b> | <b>95% CI</b>  | <b>ROR<br/>aggiustato</b> | <b>95% CI</b> | <b>Casi senza<br/>QT drugs <sup>1</sup></b> | <b>Arizona<br/>CERT <sup>2</sup></b> |
|---------------------------------------|-------------|---------------------|------------|----------------|---------------------------|---------------|---|--------------------------------------|
| <b><i>Nucleosidi e nucleotidi</i></b> |             |                     |            |                |                           |               |   |                                      |
| Acyclovir                             | 1           | 2253                | 0.27       | 0.01-1.77      | 0.35                      | 0.02-2.28     | 1   | NR                                   |
| Ribavirina                            | 2           | 7025                | 0.17       | 0.03-0.70      | 0.21                      | 0.04-0.84     | 2   | NR                                   |
| Ganciclovir                           | 1           | 430                 | 1.43       | n.a.           | 1.94                      | 0.10-12.62    | 1   | NR                                   |
| Valaciclovir                          | 1           | 2903                | 0.21       | 0.01-1.38      | 0.26                      | 0.01-1.59     | 1   | NR                                   |
| Foscarnet                             | 1           | 162                 | 3.80       | n.a.           | 5.14                      | 0.27-33.70    | -   | B                                    |
| <b><i>Inibitori proteasi</i></b>      |             |                     |            |                |                           |               |   |                                      |
| Indinavir                             | 3           | 436                 | 4.23       | 1.09-<br>13.57 | 5.31                      | 1.37-17.15    | 1   | NR                                   |
| Ritonavir                             | 5           | 2573                | 1.20       | 0.44-2.97      | 1.52                      | 0.56-3.79     | -   | NR                                   |
| Nelfinavir                            | 6           | 784                 | 4.71       | 1.91-<br>10.87 | 4.52                      | 2.38-13.63    | 2   | NR                                   |
| Atazanavir                            | 4           | 1610                | 1.53       | 0.49-4.21      | 1.87                      | 0.60-5.16     | -   | B                                    |
| Darunavir                             | 1           | 438                 | 1.40       | n.a.           | 1.90                      | 0.10-13.39    | -   | NR                                   |

**Continuazione (I)**

| <b><i>Inibitori trascrittasi inversa</i></b> |   |      |      |           |      |            |   |    |
|--|---|------|------|-----------|------|------------|---|----|
| Zidovudina                                   | 4 | 1663 | 1.48 | 0.47-4.08 | 1.99 | 0.64-5.49  | 1 | NR |
| Didanosina                                   | 1 | 1463 | 0.42 | 0.02-2.73 | 0.55 | 0.03-3.59  | - | NR |
| Stavudina                                    | 3 | 1588 | 1.16 | 0.30-3.71 | 1.51 | 0.39-4.82  | 1 | NR |
| Lamivudina                                   | 8 | 3064 | 1.61 | 0.75-3.31 | 2.06 | 0.95-4.23  | 2 | NR |
| Abacavir                                     | 3 | 1223 | 1.51 | 0.39-4.82 | 1.88 | 0.48-6.03  | 1 | NR |
| Tenofovir                                    | 2 | 1850 | 0.66 | 0.12-2.68 | 0.86 | 0.15-3.48  | - | NR |
| Adefovir                                     | 1 | 445  | 1.32 | n.a.      | 1.62 | 0.08-10.61 | 1 | NR |
| Emtricitabina                                | 1 | 447  | 1.38 | n.a.      | 1.81 | 0.09-11.85 | - | NR |
| Entecavir                                    | 1 | 441  | 1.39 | n.a.      | 1.75 | 0.09-11.45 | 1 | NR |
| Nevirapina                                   | 1 | 1669 | 0.37 | 0.02-2.39 | 0.49 | 0.03-3.18  | - | NR |
| Efavirenz                                    | 1 | 1997 | 0.31 | 0.02-2.00 | 0.41 | 0.02-2.66  | - | NR |

**Continuazione (II)*****Inibitori neuraminidasi***

|             |   |      |      |           |      |           |   |    |
|-------------|---|------|------|-----------|------|-----------|---|----|
| Oseltamivir | 1 | 1800 | 0.33 | 0.02-2.13 | 0.42 | 0.02-2.73 | 1 | NR |
|-------------|---|------|------|-----------|------|-----------|---|----|

***Combinazioni (anti-HIV)***

|                       |   |      |      |           |      |           |   |    |
|-----------------------|---|------|------|-----------|------|-----------|---|----|
| Zidovudina+lamivudina | 1 | 1516 | 0.41 | 0.02-2.64 | 0.54 | 0.03-3.54 | 1 | NR |
|-----------------------|---|------|------|-----------|------|-----------|---|----|

|                         |   |      |      |           |      |           |   |    |
|-------------------------|---|------|------|-----------|------|-----------|---|----|
| Tenofovir+emtricitabina | 1 | 1289 | 0.48 | 0.02-3.10 | 0.63 | 0.03-4.13 | - | NR |
|-------------------------|---|------|------|-----------|------|-----------|---|----|

|                                |   |     |      |      |      |            |   |    |
|--------------------------------|---|-----|------|------|------|------------|---|----|
| Zidovudina+lamivudina+abacavir | 1 | 384 | 1.60 | n.a. | 2.17 | 0.11-14.14 | 1 | NR |
|--------------------------------|---|-----|------|------|------|------------|---|----|

|                     |   |      |      |           |      |           |   |    |
|---------------------|---|------|------|-----------|------|-----------|---|----|
| Lopinavir+ritonavir | 3 | 2401 | 0.77 | 0.20-2.45 | 1.02 | 0.26-3.24 | 2 | NR |
|---------------------|---|------|------|-----------|------|-----------|---|----|

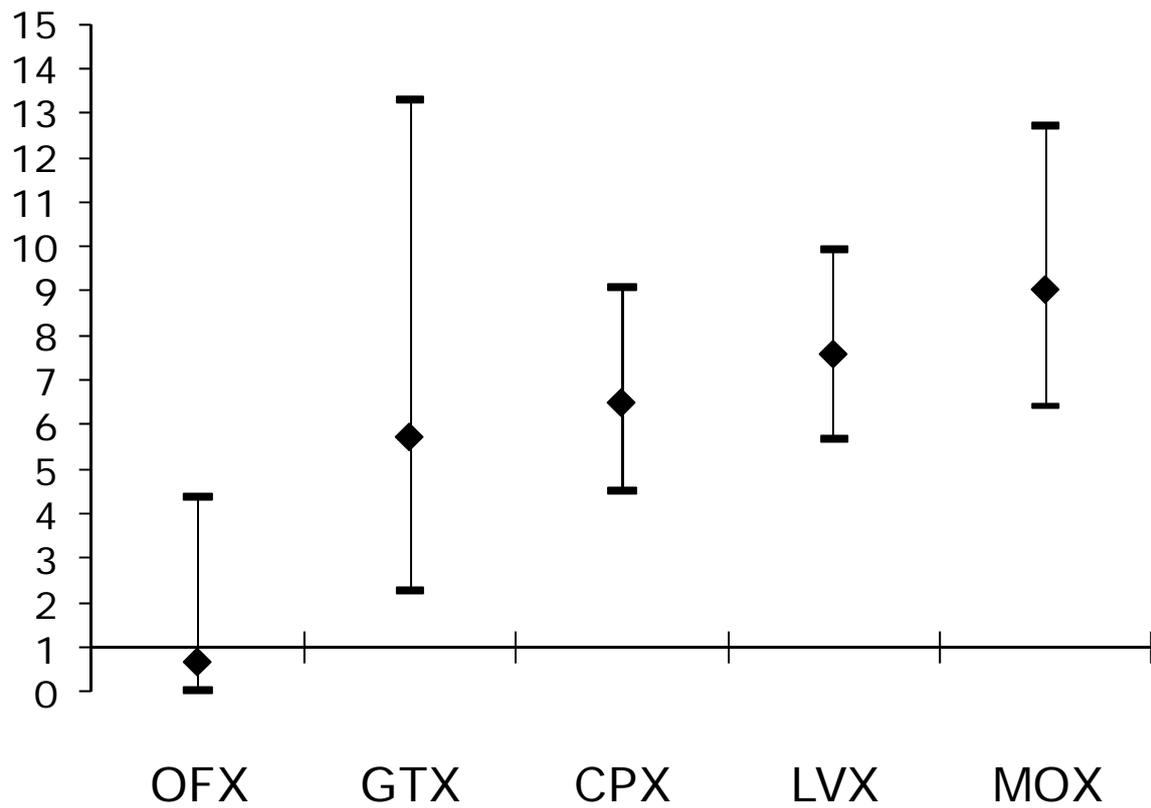
<sup>1</sup> QT drugs: farmaci riportati sul sito web curato dall'Arizona CERT ([www.azcert.org](http://www.azcert.org)).

<sup>2</sup> A: farmaci con rischio noto; B: farmaci con rischio possibile; C: farmaci con rischio non definito; NR: farmaci non riportati.

<sup>3</sup> Tali farmaci hanno avuto solamente una segnalazione di TdP ma non sono stati discussi poichè il basso numero di non casi (<60) non consentiva risultati interpretabili. Ad ogni modo, sono stati inclusi nella tabella per completezza.

n.a. = non applicabile

**Figura 9.** Distribuzione dei valori di ROR aggiustato e dei relativi intervalli di confidenza (95% CI) tra fluorochinoloni. OFX: ofloxacina; GTX: gatifloxacina; CPX: ciprofloxacina; LVX: levofloxacina; MOX: moxifloxacina.



## 4.4 Discussione

Il database AERS utilizzato dalla FDA rappresenta probabilmente l'unica attuale possibilità, a livello internazionale, di avere pubblico accesso ad un ampio set di dati ed è considerato la fonte più ampia di informazioni assieme alla banca-dati della WHO (contengono oltre 4 milioni di segnalazioni). Recentemente, numerosi autori hanno proposto ed incoraggiato l'utilizzo dell'archivio AERS nell'identificazione dei segnali precoci di sicurezza per i farmaci in commercio [204]. analogamente a quanto discusso in precedenza, i risultati dello studio devono necessariamente essere interpretati alla luce dei limiti propri della segnalazione spontanea (vedasi paragrafo "considerazioni metodologiche" del capitolo 3).

Sebbene esistano valutazioni post-marketing che hanno in precedenza analizzato le segnalazioni di TdP legate in particolar modo a macrolidi e fluorochinoloni [176, 177], questo studio rappresenta il primo tentativo di valutare sistematicamente l'intera classe farmacologica degli antimicrobici. Il merito principale risiede nel tentativo di integrare due approcci diversi: quello quantitativo e quello qualitativo (classico) della farmacovigilanza. Poiché la TdP viene citata come classico esempio di "designated medical event", la combinazione delle due metodologie consente di rilevare il maggior numero di segnali e dunque riduce la possibilità di falsi negativi. Necessariamente, la valutazione del segnale alla luce delle evidenze pubblicate è un requisito indispensabile per una corretta interpretazione. Allo stato attuale delle conoscenze, solamente pochi studi hanno approfondito e discusso la possibilità di integrare i due approcci [203, 205, 206].

L'approccio quantitativo ha portato all'identificazione di 17 antimicrobici associati a disproporzionalità. Nonostante per 12 di questi composti l'associazione con la TdP fosse già nota (es. macrolidi e fluorochinoloni), questo dato conferma la validità del metodo, mettendo in luce i cosiddetti segnali "attesi". Un segnale è stato identificato per linezolid, caspofungin,

posaconazolo, indinavir e nelfinavir. Riguardo a **linezolid**, l'FDA ha già richiesto alla ditta farmaceutica uno studio clinico *ad hoc* per valutare il rischio di un prolungamento dell'intervallo QT. Lo studio è stato completato ed i risultati saranno resi disponibili a breve. Una valutazione interna dell'FDA ha evidenziato 7 casi di alterazioni elettrocardiografiche indotte da linezolid, ma i risultati non consentono una valutazione definitiva. La scheda tecnica Americana non menziona la possibilità di aritmie o prolungamento dell'intervallo QT. Anche per **caspofungin** la ditta farmaceutica sta predisponendo una indagine post-marketing per dirimere il rischio di TdP, i cui risultati non sono ancora disponibili. La scheda tecnica Americana riporta il termine generico "aritmia" tra le reazioni avverse. Il **posaconazolo** è un antifungino triazolico che, sebbene appartenga ad una classe farmacologica nota per il rischio di TdP [7], non viene menzionato dal sito web dell'Arizona CERT presumibilmente per l'assenza di dati in letteratura. La scheda tecnica riporta un warning generico a scopo precauzionale.

Il segnale scaturito per **indinavir** e **nelfinavir** deve necessariamente essere interpretato con cautela: l'attribuzione del nesso di causalità risulta estremamente complicata considerata la numerosità dei fattori di rischio in pazienti con HIV, che possono derivare sia dalla patologia di base sia dalla polifarmacoterapia. Inoltre, entrambi i farmaci esercitano un effetto inibitorio sul citocromo P450 e di conseguenza cresce la possibilità di interazioni farmacologiche. La letteratura riporta dati contrastanti in merito, pertanto ulteriori valutazioni farmaco-epidemiologiche dovranno chiarire l'esistenza o meno di un nesso di causalità [207-209]. La scheda tecnica riconosce la possibile insorgenza di TdP e prolungamento dell'intervallo QT tra le reazioni avverse.

L'approccio **qualitativo** ha consentito di identificare **ulteriori 7 principi attivi**: ceftriaxone, piperacillina+tazobactam, cotrimossazolo, metronidazolo, ribavirina, lamivudina e lopinavir+ritonavir. Considerato il ridotto numero di

casi e l'ampia esperienza nell'uso, questi potenziali segnali non sembrano lasciar spazio ad ulteriori indagini. L'unica eccezione è rappresentata dalla **lamivudina**, soprattutto alla luce del numero significativo di segnalazioni (n=8) e della disproporzionalità borderline emersa dall'analisi statistica. La sensibilità dell'approccio qualitativo potrebbe essere migliorata allargando i termini della ricerca ed includendo eventuali *proxies* di TdP (es. prolungamento dell'intervallo QT, fibrillazione ventricolare, morte cardiaca improvvisa).

## 4.5 Conclusioni

L'analisi dell'archivio AERS ha identificato 5 segnali (linezolid, caspofungin, posaconazolo, indinavir e nelfinavir) che richiedono ulteriori valutazioni ed un monitoraggio attento delle segnalazioni nel tempo per confermare la validità dei risultati. I risultati preliminari di questa analisi dovranno necessariamente essere integrati da: (a) un'analisi più sofisticata della letteratura, (b) dati provenienti da altre banche dati ampie di segnalazione spontanea (es. quella della WHO), (c) indagini cliniche ed epidemiologiche *ad hoc* (es. studi caso-controllo), (d) creazione di network di sorveglianza internazionali per monitorare prospetticamente la sicurezza dei farmaci in commercio. Questo tipo di analisi potrà inoltre essere applicata anche ad altre classi terapeutiche problematiche per il rischio di TdP (es. antipsicotici).

## **5. COMMENTO FINALE E PROSPETTIVE**

L'approccio farmaco-epidemiologico intrapreso e discusso nella presente tesi ha delineato il rischio di TdP da farmaci da un punto di vista quantitativo e qualitativo. In linea con gli obiettivi del progetto di ricerca, l'analisi ha valutato l'utilizzo e gli effetti dei medicinali (nel caso specifico antibatterici ed anti-infettivi) in un vasto campione di popolazione (Europea ed Americana).

In termini quantitativi, è emerso un numero considerevole di antibiotici con evidenze documentate di TdP/prolungamento dell'intervallo QT. Tale elenco, in continua crescita rispetto allo studio condotto all'inizio degli anni 2000, necessita di un aggiornamento costante per fornire al medico prescrittore un valido strumento ad una prescrizione critica e consapevole, soprattutto nei pazienti con fattori di rischio per l'insorgenza di TdP. L'analisi di farmaco-utilizzazione ha documentato un consumo rilevante di macrolidi e fluorochinoloni (associati a rischio noto di TdP) soprattutto nei paesi del Sud Europa. I paesi nordici, come Svezia, Danimarca e Finlandia appaiono al contrario virtuosi in termini di utilizzo. Le ragioni di tali discrepanze meritano un approfondimento ulteriore teso a valutare eventuali peculiarità locali che potrebbero, almeno in parte, spiegare l'eterogeneità dei dati. In Italia, il trend in progressiva crescita è legato in particolar modo al notevole consumo di claritromicina. Le cause potrebbero risiedere nelle eterogenee indicazioni terapeutiche del farmaco.

Lo studio di farmacovigilanza sulle reazioni avverse a farmaci, tramite l'ausilio di un approccio quantitativo e qualitativo, ha identificato numerosi antibatterici ed antiinfettivi associati ad un possibile rischio di TdP (segnali). Il data-mining delle segnalazioni di TdP ha pertanto confermato il dato epidemiologico, dato che i farmaci emersi dall'analisi della letteratura e dall'indagine di farmaco-utilizzazione sono stati successivamente evidenziati nello studio di farmacovigilanza. Inoltre, l'indagine ha evidenziato numerosi

segnali preliminari di TdP, in precedenza sconosciuti, che necessitano di ulteriori approfondimenti e conferme tramite l'ausilio di metodiche differenti.

Lo *step* successivo del progetto di ricerca, tuttora in fase di elaborazione, prevede l'integrazione del segnale con un'analisi più sofisticata della letteratura. L'obiettivo è quello di definire dei criteri per assegnare un punteggio e stratificare pertanto il segnale tra i diversi principi attivi. Analogamente, verrà attribuito uno *score* sulla base di una valutazione quanti/qualitativa della letteratura. La combinazione dei due punteggi consentirà una valutazione critica delle evidenze per definire il rischio di TdP dei singoli principi attivi. Da un'analisi preliminare condotta sui fluorochinoloni è possibile riconoscere una certa variabilità nel rischio di TdP.

Come discusso in dettaglio e singolarmente nei diversi capitoli della tesi, ognuna delle metodologie adottate non è scevra di limiti che sono stati necessariamente presi in esame nella discussione dei risultati. Tuttavia, il progetto di ricerca rappresentano un solido punto di partenza su cui costruire un consorzio multidisciplinare atto a stratificare il rischio reale di TdP all'interno dei singoli principi attivi. L'integrazione di metodi eterogenei nella valutazione della sicurezza di un farmaco è infatti un elemento imprescindibile per una corretta interpretazione del rapporto rischio-beneficio. In tal senso, la FDA recentemente ha annunciato la creazione di un sistema elettronico integrato, denominato "Sentinel", con l'obiettivo ultimo di unificare i database internazionali [210].

Va sottolineato come la tesi qui descritta si inserisce nel contesto di un Progetto Strategico di Ateneo dell'Università di Bologna intitolato "QT lungo da farmaci: approccio multidisciplinare per l'identificazione del rischio", in cui tre diverse unità di ricerca (farmaco-epidemiologia, modellistica molecolare e genetica) hanno valutato il rischio di aritmia da farmaci con metodi complementari. La collaborazione instaurata ed i risultati dello studio sono serviti per porre le basi della partecipazione del nostro gruppo di ricerca al

progetto ARITMO (Arrhythmogenic potential of drugs), finanziato nell'ambito del settimo programma quadro (FP7). ARITMO si prefigge lo scopo generale di definire il potenziale pro-aritmico di alcune classi terapeutiche problematiche (anti-infettivi, anti-istaminici ed antipsicotici), attraverso una valutazione integrata e multidisciplinare. Gli obiettivi specifici della farmaco-epidemiologia e farmacovigilanza mirano a creare un *network* di esperti del settore e concordare dei metodi comuni per analizzare ed interpretare dati spesso disomogenei. A lungo termine, il consorzio si prefigge di definire degli standard internazionali a disposizione di Agenzie Regolatorie e medici per una corretta valutazione del rapporto rischio/beneficio del singolo farmaco.

Per concludere, la mia opinione personale è che l'approccio farmaco-epidemiologico proposto si possa collocare all'interno dell'ampio capitolo dell'appropriatezza prescrittiva, ponendosi come strumento a supporto di una prescrizione consapevole, razionale e personalizzata sul singolo paziente. Il medico, consapevole che nessun medicinale è privo di rischi, deve poter disporre degli elementi essenziali per valutare criticamente il rischio di TdP sulla base delle peculiarità cliniche e farmacologiche.

## 6. BIBLIOGRAFIA

1. De Ponti F, Poluzzi E, Cavalli A, Recanatini M, Montanaro N. Safety of non-antiarrhythmic drugs that prolong the QT interval or induce torsade de pointes: an overview. *Drug Saf* 2002; 25: 263-86.
2. Dessertenne F. [Ventricular tachycardia with 2 variable opposing foci]. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1966; 59: 263-72.
3. Yap YG, Camm AJ. Drug induced QT prolongation and torsades de pointes. *Heart* 2003; 89: 1363-72.
4. Roden DM. Drug-induced prolongation of the QT interval. *N Engl J Med* 2004; 350: 1013-22.
5. Recanatini M, Poluzzi E, Masetti M, Cavalli A, De Ponti F. QT prolongation through hERG K<sup>+</sup> channel blockade: current knowledge and strategies for the early prediction during drug development. *Med Res Rev* 2005; 25: 133-66.
6. Darpo B. Spectrum of drugs prolonging QT interval and the incidence of torsades de pointes. *Eur Heart J Suppl* 2001; 3: K70-K80.
7. Owens RC, Jr. QT prolongation with antimicrobial agents: understanding the significance. *Drugs* 2004; 64: 1091-124.
8. De Ponti F, Poluzzi E, Montanaro N, Ferguson J. QTc and psychotropic drugs. *Lancet* 2000; 356: 75-6.
9. De Ponti F, Poluzzi E, Vaccheri A, Bergman U, Bjerrum L, Ferguson J, Frenz KJ, McManus P, Schubert I, Selke G, Terzis-Vaslamatzis G, Montanaro N. Non-antiarrhythmic drugs prolonging the QT interval: considerable use in seven countries. *Br J Clin Pharmacol* 2002; 54: 171-7.
10. Shah RR. Can pharmacogenetics help rescue drugs withdrawn from the market? *Pharmacogenomics* 2006; 7: 889-908.
11. Valentin JP. Reducing QT liability and proarrhythmic risk in drug discovery and development. *Br J Pharmacol* 2010; 159: 5-11.
12. Sanguinetti MC, Jiang C, Curran ME, Keating MT. A mechanistic link between an inherited and an acquired cardiac arrhythmia: HERG encodes the IKr potassium channel. *Cell* 1995; 81: 299-307.
13. De Ponti F, Poluzzi E, Montanaro N. QT-interval prolongation by non-cardiac drugs: lessons to be learned from recent experience. *Eur J Clin Pharmacol* 2000; 56: 1-18.
14. De Ponti F, Poluzzi E, Montanaro N. Organising evidence on QT prolongation and occurrence of Torsades de Pointes with non-antiarrhythmic drugs: a call for consensus. *Eur J Clin Pharmacol* 2001; 57: 185-209.
15. Cavalli A, Poluzzi E, De Ponti F, Recanatini M. Toward a pharmacophore for drugs inducing the long QT syndrome: insights from a CoMFA study of HERG K(+) channel blockers. *J Med Chem* 2002; 45: 3844-53.
16. Witchel HJ. The hERG potassium channel as a therapeutic target. *Expert Opin Ther Targets* 2007; 11: 321-36.

17. Raschi E, Vasina V, Poluzzi E, De Ponti F. The hERG K(+) channel: target and antitarget strategies in drug development. *Pharmacol Res* 2008; 57: 181-95.
18. Arcangeli A, Crociani O, Lastraioli E, Masi A, Pillozzi S, Becchetti A. Targeting ion channels in cancer: a novel frontier in antineoplastic therapy. *Curr Med Chem* 2009; 16: 66-93.
19. Perrin MJ, Subbiah RN, Vandenberg JI, Hill AP. Human ether-a-go-go related gene (hERG) K+ channels: function and dysfunction. *Prog Biophys Mol Biol* 2008; 98: 137-48.
20. Vandenberg JI, Torres AM, Campbell TJ, Kuchel PW. The HERG K+ channel: progress in understanding the molecular basis of its unusual gating kinetics. *Eur Biophys J* 2004; 33: 89-97.
21. Pages G, Torres AM, Ju P, Bansal PS, Alewood PF, Kuchel PW et al. Structure of the pore-helix of the hERG K(+) channel. *Eur Biophys J* 2009; 39: 111-20.
22. Zitron E, Scholz E, Owen RW, Luck S, Kiesecker C, Thomas D et al. QTc prolongation by grapefruit juice and its potential pharmacological basis: HERG channel blockade by flavonoids. *Circulation* 2005; 111: 835-8.
23. Guizy M, Arias C, David M, Gonzalez T, Valenzuela C. {Omega}-3 and {omega}-6 polyunsaturated fatty acids block HERG channels. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005; 289: C1251-C1260.
24. Scholz EP, Zitron E, Kiesecker C, Luck S, Thomas D, Kathofer S et al. Inhibition of cardiac HERG channels by grapefruit flavonoid naringenin: implications for the influence of dietary compounds on cardiac repolarisation. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2005; 371: 516-25.
25. Kelemen K, Kiesecker C, Zitron E, Bauer A, Scholz E, Bloehs R et al. Green tea flavonoid epigallocatechin-3-gallate (EGCG) inhibits cardiac hERG potassium channels. *Biochem Biophys Res Commun* 2007.
26. Restano-Cassulini R, Korolkova YV, Diochot S, Gurrola G, Guasti L, Possani LD et al. Species diversity and peptide toxins blocking selectivity of ether-a-go-go-related gene subfamily K+ channels in the central nervous system. *Mol Pharmacol* 2006; 69: 1673-83.
27. Zhang M, Liu XS, Diochot S, Lazdunski M, Tseng GN. APETx1 from sea anemone *Anthopleura elegantissima* is a gating modifier peptide toxin of the human ether-a-go-go-related potassium channel. *Mol Pharmacol* 2007; 72: 259-68.
28. Hill AP, Sunde M, Campbell TJ, Vandenberg JI. Mechanism of block of the hERG K+ channel by the scorpion toxin CnErg1. *Biophys J* 2007; 92: 3915-29.
29. Pardo-Lopez L, Zhang M, Liu J, Jiang M, Possani LD, Tseng GN. Mapping the binding site of a human ether-a-go-go-related gene-specific peptide toxin (ErgTx) to the channel's outer vestibule. *J Biol Chem* 2002; 277: 16403-11.
30. Wanke E, Restano-Cassulini R. Toxins interacting with ether-a-go-go-related gene voltage-dependent potassium channels. *Toxicon* 2007; 49: 239-48.
31. Roden DM. Cellular basis of drug-induced torsades de pointes. *Br J Pharmacol* 2008; 154: 1502-7.
32. Hoffmann P, Warner B. Are hERG channel inhibition and QT interval prolongation all there is in drug-induced torsadogenesis? A review of emerging trends. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2006; 53: 87-105.

33. Malik M, Camm AJ. Evaluation of drug-induced QT interval prolongation: implications for drug approval and labelling. *Drug Saf* 2001; 24: 323-51.
34. Cavero I, Crumb-WJ J. Native and cloned ion channels from human heart: laboratory models for evaluating the cardiac safety of new drugs. *Eur Heart J Suppl* 2001; 3: K53-K63.
35. Lacerda AE, Kramer J, Shen KZ, Thomas D, Brown A.M. Comparison of block among cloned cardiac potassium channels by non-antiarrhythmic drugs. *Eur Heart J Suppl* 2001; 3: K23-K30.
36. Pacher P, Ungvari Z, Nanasi PP, Furst S, Kecskemeti V. Speculations on difference between tricyclic and selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants on their cardiac effects. Is there any? *Curr Med Chem* 1999; 6: 469-80.
37. Platia EV, Estes M, Heine DL, Griffith LS, Garan H, Ruskin JN et al. Flecainide: electrophysiologic and antiarrhythmic properties in refractory ventricular tachycardia. *Am J Cardiol* 1985; 55: 956-62.
38. Bruelle P, LeFrant JY, de La Coussaye JE, Peray PA, Desch G, Sassine A et al. Comparative electrophysiologic and hemodynamic effects of several amide local anesthetic drugs in anesthetized dogs. *Anesth Analg* 1996; 82: 648-56.
39. Lacerda AE, Kuryshv YA, Chen Y, Renganathan M, Eng H, Danthi SJ et al. Alfuzosin Delays Cardiac Repolarization by a Novel Mechanism. *J Pharmacol Exp Ther* 2007.
40. Siebrands CC, Schmitt N, Friederich P. Local anesthetic interaction with human ether-a-go-go-related gene (HERG) channels: role of aromatic amino acids Y652 and F656. *Anesthesiology* 2005; 103: 102-12.
41. O'Leary ME. Inhibition of human ether-a-go-go potassium channels by cocaine. *Mol Pharmacol* 2001; 59: 269-77.
42. Zhang S, Rajamani S, Chen Y, Gong Q, Rong Y, Zhou Z et al. Cocaine blocks HERG, but not KvLQT1+minK, potassium channels. *Mol Pharmacol* 2001; 59: 1069-76.
43. Guo J, Gang H, Zhang S. Molecular determinants of cocaine block of human ether-a-go-go-related gene potassium channels. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 317: 865-74.
44. Tamargo J, Caballero R, Gomez R, Valenzuela C, Delpon E. Pharmacology of cardiac potassium channels. *Cardiovasc Res* 2004; 62: 9-33.
45. Roden DM, George ALJ. Structure and function of cardiac sodium and potassium channels. *Am J Physiol* 1997; 273: H511-H525.
46. Nattel S. The molecular and ionic specificity of antiarrhythmic drug actions. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1999; 10: 272-82.
47. Vandenberg JI, Walker BD, Campbell TJ. HERG K(+) channels: friend and foe. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22: 240-6.
48. Towart R, Linders JT, Hermans AN, Rohrbacher J, van der Linde HJ, Ercken M et al. Blockade of the I(Ks) potassium channel: an overlooked cardiovascular liability in drug safety screening? *J Pharmacol Toxicol Methods* 2009; 60: 1-10.
49. Katchman AN, Koerner J, Tosaka T, Woosley RL, Ebert SN. Comparative evaluation of HERG currents and QT intervals following challenge with suspected torsadogenic and nontorsadogenic drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316: 1098-106.

50. Cordes JS, Sun Z, Lloyd DB, Bradley JA, Opsahl AC, Tengowski MW et al. Pentamidine reduces hERG expression to prolong the QT interval. *Br J Pharmacol* 2005; 145: 15-23.
51. Kuryshev YA, Ficker E, Wang L, Hawryluk P, Dennis AT, Wible BA et al. Pentamidine-induced long QT syndrome and block of hERG trafficking. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 312: 316-23.
52. Drolet B, Simard C, Roden DM. Unusual effects of a QT-prolonging drug, arsenic trioxide, on cardiac potassium currents. *Circulation* 2004; 109: 26-9.
53. Ficker E, Kuryshev YA, Dennis AT, Obejero-Paz C, Wang L, Hawryluk P et al. Mechanisms of arsenic-induced prolongation of cardiac repolarization. *Mol Pharmacol* 2004; 66: 33-44.
54. Wang L, Wible BA, Wan X, Ficker E. Cardiac glycosides as novel inhibitors of human ether-a-go-go-related gene channel trafficking. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 320: 525-34.
55. Guo J, Massaeli H, Li W, Xu J, Luo T, Shaw J et al. Identification of IKr and its trafficking disruption induced by probucol in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 321: 911-20.
56. Takemasa H, Nagatomo T, Abe H, Kawakami K, Igarashi T, Tsurugi T et al. Coexistence of hERG current block and disruption of protein trafficking in ketoconazole-induced long QT syndrome. *Br J Pharmacol* 2008; 153: 439-47.
57. Hancox JC, Mitcheson JS. Combined hERG channel inhibition and disruption of trafficking in drug-induced long QT syndrome by fluoxetine: a case-study in cardiac safety pharmacology. *Br J Pharmacol* 2006; 149: 457-9.
58. Rajamani S, Eckhardt LL, Valdivia CR, Klemens CA, Gillman BM, Anderson CL et al. Drug-induced long QT syndrome: hERG K<sup>+</sup> channel block and disruption of protein trafficking by fluoxetine and norfluoxetine. *Br J Pharmacol* 2006; 149: 481-9.
59. van der Heyden MA, Smits ME, Vos MA. Drugs and trafficking of ion channels: a new pro-arrhythmic threat on the horizon? *Br J Pharmacol* 2008; 153: 406-9.
60. Morganroth J. Focus on issues in measuring and interpreting changes in the QTc interval duration. *Eur Heart J Suppl* 2001; 3: K105-K111.
61. Paltoo B, O'Donoghue S, Mousavi MS. Levofloxacin induced polymorphic ventricular tachycardia with normal QT interval. *Pacing Clin Electrophysiol* 2001; 24: 895-7.
62. Smetana P, Batchvarov VN, Hnatkova K, Camm AJ, Malik M. Sex differences in repolarization homogeneity and its circadian pattern. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282: H1889-H1897.
63. Extramiana F, Maison-Blanche P, Badilini F, Pinoteau J, Deseo T, Coumel P. Circadian modulation of QT rate dependence in healthy volunteers: gender and age differences. *J Electrocardiol* 1999; 32: 33-43.
64. Beyerbach DM, Kovacs RJ, Dmitrienko AA, Rebhun DM, Zipes DP. Heart rate-corrected QT interval in men increases during winter months. *Heart Rhythm* 2007; 4: 277-81.
65. Extramiana F, Maison-Blanche P, Cabanis MJ, Ortemann-Renon C, Beaufile P, Leenhardt A. Clinical assessment of drug-induced QT prolongation in association with heart rate changes. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 77: 247-58.
66. Sarapa N, Morganroth J, Couderc JP, Francom SF, Darpo B, Fleishaker JC et al. Electrocardiographic identification of drug-induced QT prolongation: assessment by

- different recording and measurement methods. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2004; 9: 48-57.
67. Sheridan DJ. Drug-induced proarrhythmic effects: assessment of changes in QT interval. *Br J Clin Pharmacol* 2000; 50: 297-302.
  68. Malik M. Problems of heart rate correction in assessment of drug-induced QT interval prolongation. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2001; 12: 411-20.
  69. Batchvarov VN, Ghuran A, Smetana P, Hnatkova K, Harries M, Dilaveris P et al. QT-RR relationship in healthy subjects exhibits substantial intersubject variability and high intrasubject stability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282: H2356-H2363.
  70. Malik M, Farbom P, Batchvarov V, Hnatkova K, Camm AJ. Relation between QT and RR intervals is highly individual among healthy subjects: implications for heart rate correction of the QT interval. *Heart* 2002; 87: 220-8.
  71. Malik M, Hnatkova K, Novotny T, Schmidt G. Subject-specific profiles of QT/RR hysteresis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 295: H2356-H2363.
  72. Malik M, Hnatkova K, Schmidt A, Smetana P. Correction for QT/RR hysteresis in the assessment of drug-induced QTc changes--cardiac safety of gadobutrol. *Ann Noninvasive Electrocardiol* 2009; 14: 242-50.
  73. Aytimir K, Maarouf N, Gallagher MM, Yap YG, Waktare JE, Malik M. Comparison of formulae for heart rate correction of QT interval in exercise electrocardiograms. *Pacing Clin Electrophysiol* 1999; 22: 1397-401.
  74. Cavero I, Mestre M, Guillon JM, Crumb W. Drugs that prolong QT interval as an unwanted effect: assessing their likelihood of inducing hazardous cardiac dysrhythmias. *Expert Opin Pharmacother* 2000; 1: 947-73.
  75. Shah RR, Hondeghem LM. Refining detection of drug-induced proarrhythmia: QT interval and TRIaD. *Heart Rhythm* 2005; 2: 758-72.
  76. Hondeghem LM, Hoffmann P. Blinded test in isolated female rabbit heart reliably identifies action potential duration prolongation and proarrhythmic drugs: importance of triangulation, reverse use dependence, and instability. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 41: 14-24.
  77. Antzelevitch C. Heterogeneity and cardiac arrhythmias: an overview. *Heart Rhythm* 2007; 4: 964-72.
  78. Antzelevitch C. Role of transmural dispersion of repolarization in the genesis of drug-induced torsades de pointes. *Heart Rhythm* 2005; 2: S9-15.
  79. Yan GX, Wu Y, Liu T, Wang J, Marinchak RA, Kowey PR. Phase 2 early afterdepolarization as a trigger of polymorphic ventricular tachycardia in acquired long-QT syndrome : direct evidence from intracellular recordings in the intact left ventricular wall. *Circulation* 2001; 103: 2851-6.
  80. Raschi E, Ceccarini L, De Ponti F, Recanatini M. hERG-related drug toxicity and models for predicting hERG liability and QT prolongation. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2009; 5: 1005-21.
  81. Hondeghem LM, Carlsson L, Duker G. Instability and triangulation of the action potential predict serious proarrhythmia, but action potential duration prolongation is antiarrhythmic. *Circulation* 2001; 103: 2004-13.

82. Hondeghem LM. Thorough QT/QTc not so thorough: removes torsadogenic predictors from the T-wave, incriminates safe drugs, and misses profibrillatory drugs. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2006; 17: 337-40.
83. Roden DM. Taking the "idio" out of "idiosyncratic": predicting torsades de pointes. *Pacing Clin Electrophysiol* 1998; 21: 1029-34.
84. Pugsley MK, Authier S, Curtis MJ. Principles of safety pharmacology. *Br J Pharmacol* 2008; 154: 1382-99.
85. ICH Topic S 7 B - The nonclinical Evaluation of the Potential for delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals. Disponibile sul sito web <http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/ich/042302en.pdf>. Ultimo accesso 3-3-2010.
86. ICH Topic E 14 - The Clinical Evaluation of QT/QTc Interval Prolongation and Proarrhythmic Potential for Non-Antiarrhythmic Drugs. Disponibile sul sito web <http://emea.eu.int/pdfs/human/ich/000204en.pdf>. Ultimo accesso 3-3-2010.
87. Ekins S, Crumb WJ, Sarazan RD, Wikel JH, Wrighton SA. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship for inhibition of human ether-a-go-go-related gene potassium channel. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 301: 427-34.
88. Aronov AM. Predictive in silico modeling for hERG channel blockers. *Drug Discov Today* 2005; 10: 149-55.
89. Recanatini M, Cavalli A, Masetti M. Modeling HERG and its interactions with drugs: recent advances in light of current potassium channel simulations. *ChemMedChem* 2008; 3: 523-35.
90. Netzer R, Ebneith A, Bischoff U, Pongs O. Screening lead compounds for QT interval prolongation. *Drug Discov Today* 2001; 6: 78-84.
91. Finlayson K, Witchel HJ, McCulloch J, Sharkey J. Acquired QT interval prolongation and HERG: implications for drug discovery and development. *Eur J Pharmacol* 2004; 500: 129-42.
92. Fenichel RR, Malik M, Antzelevitch C, Sanguinetti M, Roden DM, Priori SG et al. Drug-induced torsades de pointes and implications for drug development. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2004; 15: 475-95.
93. Lawrence CL, Pollard CE, Hammond TG, Valentin JP. Nonclinical proarrhythmia models: predicting Torsades de Pointes. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2005; 52: 46-59.
94. Carlsson L. In vitro and in vivo models for testing arrhythmogenesis in drugs. *J Intern Med* 2006; 259: 70-80.
95. Thomsen MB, Matz J, Volders PG, Vos MA. Assessing the proarrhythmic potential of drugs: current status of models and surrogate parameters of torsades de pointes arrhythmias. *Pharmacol Ther* 2006; 112: 150-70.
96. Lawrence CL, Pollard CE, Hammond TG, Valentin JP. In vitro models of proarrhythmia. *Br J Pharmacol* 2008; 154: 1516-22.
97. Gintant GA. Preclinical Torsades-de-Pointes screens: advantages and limitations of surrogate and direct approaches in evaluating proarrhythmic risk. *Pharmacol Ther* 2008; 119: 199-209.
98. Hancox JC, McPate MJ, El HA, Zhang YH. The hERG potassium channel and hERG screening for drug-induced torsades de pointes. *Pharmacol Ther* 2008; 119: 118-32.

99. Davis AS. The pre-clinical assessment of QT interval prolongation: a comparison of in vitro and in vivo methods. *Hum Exp Toxicol* 1998; 17: 677-80.
100. Carlsson L. Drug-induced torsade de pointes: the perspectives of industry. *Eur Heart J Suppl* 2001; 3: K114-K120.
101. Gintant GA, Limberis JT, McDermott JS, Wegner CD, Cox BF. The canine Purkinje fiber: an in vitro model system for acquired long QT syndrome and drug-induced arrhythmogenesis. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001; 37: 607-18.
102. Hamlin RL, Cruze CA, Mittelstadt SW, Kijawornrat A, Keene BW, Roche BM et al. Sensitivity and specificity of isolated perfused guinea pig heart to test for drug-induced lengthening of QTc. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2004; 49: 15-23.
103. Aubert M, Osterwalder R, Wagner B, Parrilla I, Cavero I, Doessegger L et al. Evaluation of the rabbit Purkinje fibre assay as an in vitro tool for assessing the risk of drug-induced torsades de pointes in humans. *Drug Saf* 2006; 29: 237-54.
104. Lu HR, Vlaminckx E, Van de WA, Rohrbacher J, Hermans A, Gallacher DJ. In-vitro experimental models for the risk assessment of antibiotic-induced QT prolongation. *Eur J Pharmacol* 2006; 553: 229-39.
105. Cavero I, Yan GX, Lux R, Steinhoff U. Safety pharmacology and prolongation of the QT interval. *J Electrocardiol* 2007; 40: S58-S61.
106. Zhang S, Zhou Z, Gong Q, Makielski JC, January CT. Mechanism of block and identification of the verapamil binding domain to HERG potassium channels. *Circ Res* 1999; 84: 989-98.
107. Witchel HJ, Pabbathi VK, Hofmann G, Paul AA, Hancox JC. Inhibitory actions of the selective serotonin re-uptake inhibitor citalopram on HERG and ventricular L-type calcium currents. *FEBS Lett* 2002; 512: 59-66.
108. Fossa AA, Gorczyca W, Wisialowski T, Yasgar A, Wang E, Crimin K et al. Electrical alternans and hemodynamics in the anesthetized guinea pig can discriminate the cardiac safety of antidepressants. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2007; 55: 78-85.
109. Martin RL, McDermott JS, Salmen HJ, Palmatier J, Cox BF, Gintant GA. The utility of hERG and repolarization assays in evaluating delayed cardiac repolarization: influence of multi-channel block. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004; 43: 369-79.
110. Lu HR, Vlaminckx E, Gallacher DJ. Choice of cardiac tissue in vitro plays an important role in assessing the risk of drug-induced cardiac arrhythmias in human: Beyond QT prolongation. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2007.
111. Cavero I, Crumb W. ICH S7B draft guideline on the non-clinical strategy for testing delayed cardiac repolarisation risk of drugs: a critical analysis. *Expert Opin Drug Saf* 2005; 4: 509-30.
112. Valentin JP, Pollard C, Laine P, Hammond T. Value of non-clinical cardiac repolarization assays in supporting the discovery and development of safer medicines. *Br J Pharmacol* 2010; 159: 25-33.
113. De Ponti F. Pharmacological and regulatory aspects of QT prolongation. In: *Antitargets. Prediction and prevention of drug side effects*, I Edition, ed Vaz RJekTE, Weinheim: Wiley-VCH, 2008: 109-126.
114. Pollard CE, Abi GN, Bridgland-Taylor MH, Easter A, Hammond TG, Valentin JP. An introduction to QT interval prolongation and non-clinical approaches to assessing and reducing risk. *Br J Pharmacol* 2010; 159: 12-21.

115. Wallis RM. Integrated risk assessment and predictive value to humans of non-clinical repolarization assays. *Br J Pharmacol* 2010; 159: 115-21.
116. Trepakova ES, Koerner J, Pettit SD, Valentin JP. A HESI consortium approach to assess the human predictive value of non-clinical repolarization assays. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2009; 60: 45-50.
117. Wible BA, Hawryluk P, Ficker E, Kuryshev YA, Kirsch G, Brown AM. HERG-Lite: a novel comprehensive high-throughput screen for drug-induced hERG risk. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2005; 52: 136-45.
118. Redfern WS, Carlsson L, Davis AS, Lynch WG, MacKenzie I, Palethorpe S et al. Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development. *Cardiovasc Res* 2003; 58: 32-45.
119. Zhou Z, Vorperian VR, Gong Q, Zhang S, January CT. Block of HERG potassium channels by the antihistamine astemizole and its metabolites desmethylastemizole and norastemizole. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1999; 10: 836-43.
120. Michiels M, Van Peer A, Woestenborghs R, Heykants J. Pharmacokinetics and tissue distribution of astemizole in the dog. *Drug Development Research* 1986; 8: 53-62.
121. Sugiyama A, Aye NN, Katahira S, Saitoh M, Hagihara A, Matsubara Y et al. Effects of nonsedating antihistamine, astemizole, on the in situ canine heart assessed by cardiohemodynamic and monophasic action potential monitoring. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 143: 89-95.
122. Eap CB, Crettol S, Rougier JS, Schlapfer J, Sintra GL, Deglon JJ et al. Stereoselective block of hERG channel by (S)-methadone and QT interval prolongation in CYP2B6 slow metabolizers. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 81: 719-28.
123. Shah RR. Drugs, QTc interval prolongation and final ICH E14 guideline: an important milestone with challenges ahead. *Drug Saf* 2005; 28: 1009-28.
124. Shah RR. Drug-induced QT interval prolongation--regulatory guidance and perspectives on hERG channel studies. *Novartis Found Symp* 2005; 266: 251-80.
125. Shah RR. Drugs, QT interval prolongation and ICH E14: the need to get it right. *Drug Saf* 2005; 28: 115-25.
126. Darpo B, Nebout T, Sager PT. Clinical evaluation of QT/QTc prolongation and proarrhythmic potential for nonantiarrhythmic drugs: the International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use E14 guideline. *J Clin Pharmacol* 2006; 46: 498-507.
127. Shah RR. If a drug deemed 'safe' in nonclinical tests subsequently prolongs QT in phase 1 studies, how can its sponsor convince regulators to allow development to proceed? *Pharmacol Ther* 2008; 119: 215-21.
128. Malik M, Garnett CE, Zhang J. Thorough QT Studies: Questions and Quandaries. *Drug Saf* 2010; 33: 1-14.
129. Darpo B. The thorough QT/QTc study 4 years after the implementation of the ICH E14 guidance. *Br J Pharmacol* 2010; 159: 49-57.
130. Malik M, Hnatkova K, Batchvarov V, Gang Y, Smetana P, Camm AJ. Sample size, power calculations, and their implications for the cost of thorough studies of drug induced QT interval prolongation. *Pacing Clin Electrophysiol* 2004; 27: 1659-69.

131. Morganroth J. Cardiac repolarization and the safety of new drugs defined by electrocardiography. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 81: 108-13.
132. Bloomfield DM, Kost JT, Ghosh K, Hreniuk D, Hickey LA, Guitierrez MJ et al. The effect of moxifloxacin on QTc and implications for the design of thorough QT studies. *Clin Pharmacol Ther* 2008; 84: 475-80.
133. Malik M, Hnatkova K, Schmidt A, Smetana P. Electrocardiographic QTc changes due to moxifloxacin infusion. *J Clin Pharmacol* 2009; 49: 674-83.
134. Garnett CE, Beasley N, Bhattaram VA, Jadhav PR, Madabushi R, Stockbridge N et al. Concentration-QT relationships play a key role in the evaluation of proarrhythmic risk during regulatory review. *J Clin Pharmacol* 2008; 48: 13-8.
135. Sarapa N, Britto MR. Challenges of characterizing proarrhythmic risk due to QTc prolongation induced by nonadjuvant anticancer agents. *Expert Opin Drug Saf* 2008; 7: 305-18.
136. Curigliano G, Spitaleri G, Fingert HJ, de Braud F, Sessa C, Loh E et al. Drug-induced QTc interval prolongation: a proposal towards an efficient and safe anticancer drug development. *Eur J Cancer* 2008; 44: 494-500.
137. Rock EP, Finkle J, Fingert HJ, Booth BP, Garnett CE, Grant S et al. Assessing proarrhythmic potential of drugs when optimal studies are infeasible. *Am Heart J* 2009; 157: 827-36, 836.
138. Holbrook M, Malik M, Shah RR, Valentin JP. Drug induced shortening of the QT/QTc interval: an emerging safety issue warranting further modelling and evaluation in drug research and development? *J Pharmacol Toxicol Methods* 2009; 59: 21-8.
139. Malik M. Facts, fancies and follies of drug-induced QT/QTc interval shortening. *Br J Pharmacol* 2010; 159: 70-6.
140. Shah RR. Drug-induced QT interval shortening: potential harbinger of proarrhythmia and regulatory perspectives. *Br J Pharmacol* 2010; 159: 58-69.
141. Gussak I, Brugada P, Brugada J, Wright RS, Kopecky SL, Chaitman BR et al. Idiopathic short QT interval: a new clinical syndrome? *Cardiology* 2000; 94: 99-102.
142. Lu HR, Vlamincx E, Hermans AN, Rohrbacher J, Van AK, Towart R et al. Predicting drug-induced changes in QT interval and arrhythmias: QT-shortening drugs point to gaps in the ICHS7B Guidelines. *Br J Pharmacol* 2008; 154: 1427-38.
143. Vander Stichele RH, Elseviers MM, Ferech M, Blot S, Goossens H. European surveillance of antimicrobial consumption (ESAC): data collection performance and methodological approach. *Br J Clin Pharmacol* 2004; 58: 419-28.
144. Ferech M, Coenen S, Malhotra-Kumar S, Dvorakova K, Hendrickx E, Suetens C et al. European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient antibiotic use in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58: 401-7.
145. Ray A. Beyond debacle and debate: developing solutions in drug safety. *Nat Rev Drug Discov* 2009; 8: 775-9.
146. Wise L, Parkinson J, Raine J, Breckenridge A. New approaches to drug safety: a pharmacovigilance tool kit. *Nat Rev Drug Discov* 2009; 8: 779-82.
147. Hauben M, Aronson JK. Defining 'signal' and its subtypes in pharmacovigilance based on a systematic review of previous definitions. *Drug Saf* 2009; 32: 99-110.

148. Meyboom RH, Hekster YA, Egberts AC, Gribnau FW, Edwards IR. Causal or casual? The role of causality assessment in pharmacovigilance. *Drug Saf* 1997; 17: 374-89.
149. Edwards I.R., Aronson J.K. Adverse drug reactions: definitions, diagnosis, and management. *Lancet* 2000; 356: 1255-9.
150. Hauben M, Reich L, Chung S. Postmarketing surveillance of potentially fatal reactions to oncology drugs: potential utility of two signal-detection algorithms. *Eur J Clin Pharmacol* 2004; 60: 747-50.
151. Moore N, Kreft-Jais C, Haramburu F, Noblet C, Andrejak M, Ollagnier M et al. Reports of hypoglycaemia associated with the use of ACE inhibitors and other drugs: a case/non-case study in the French pharmacovigilance system database. *Br J Clin Pharmacol* 1997; 44: 513-8.
152. Hauben M, Madigan D, Gerrits CM, Walsh L, van Puijenbroek EP. The role of data mining in pharmacovigilance. *Expert Opin Drug Saf* 2005; 4: 929-48.
153. Almenoff J, Topping JM, Gould AL, Szarfman A, Hauben M, Ouellet-Hellstrom R et al. Perspectives on the use of data mining in pharmaco-vigilance. *Drug Saf* 2005; 28: 981-1007.
154. Hauben M, Patadia V, Gerrits C, Walsh L, Reich L. Data mining in pharmacovigilance: the need for a balanced perspective. *Drug Saf* 2005; 28: 835-42.
155. Bate A, Edwards IR. Data mining in spontaneous reports. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2006; 98: 324-30.
156. Bate A, Evans SJ. Quantitative signal detection using spontaneous ADR reporting. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2009; 18: 427-36.
157. Hauben M, Bate A. Decision support methods for the detection of adverse events in post-marketing data. *Drug Discov Today* 2009; 14: 343-57.
158. de Graaf L, Fabius MA, Diemont WL, van Puijenbroek EP. The Weber-curve pitfall: effects of a forced introduction on reporting rates and reported adverse reaction profiles. *Pharm World Sci* 2003; 25: 260-3.
159. van der Heijden PG, van Puijenbroek EP, van Buuren S, van der Hofstede JW. On the assessment of adverse drug reactions from spontaneous reporting systems: the influence of under-reporting on odds ratios. *Stat Med* 2002; 21: 2027-44.
160. Hauben M, Reich L. Potential utility of data-mining algorithms for early detection of potentially fatal/disabling adverse drug reactions: a retrospective evaluation. *J Clin Pharmacol* 2005; 45: 378-84.
161. Hauben M, Zhou X. Quantitative methods in pharmacovigilance: focus on signal detection. *Drug Saf* 2003; 26: 159-86.
162. Hauben M, Horn S, Reich L. Potential use of data-mining algorithms for the detection of 'surprise' adverse drug reactions. *Drug Saf* 2007; 30: 143-55.
163. Evans SJ, Waller PC, Davis S. Use of proportional reporting ratios (PRRs) for signal generation from spontaneous adverse drug reaction reports. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2001; 10: 483-6.
164. Bate A, Lindquist M, Edwards IR, Orre R. A data mining approach for signal detection and analysis. *Drug Saf* 2002; 25: 393-7.
165. van Puijenbroek EP, Bate A, Leufkens HG, Lindquist M, Orre R, Egberts AC. A comparison of measures of disproportionality for signal detection in spontaneous

- reporting systems for adverse drug reactions. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2002; 11: 3-10.
166. Rothman KJ, Lanes S, Sacks ST. The reporting odds ratio and its advantages over the proportional reporting ratio. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2004; 13: 519-23.
  167. Hartnell NR, Wilson JP. Replication of the Weber effect using postmarketing adverse event reports voluntarily submitted to the United States Food and Drug Administration. *Pharmacotherapy* 2004; 24: 743-9.
  168. Pariente A, Gregoire F, Fourrier-Reglat A, Haramburu F, Moore N. Impact of safety alerts on measures of disproportionality in spontaneous reporting databases: the notoriety bias. *Drug Saf* 2007; 30: 891-8.
  169. Hauben M, Reich L, DeMicco J, Kim K. 'Extreme duplication' in the US FDA Adverse Events Reporting System database. *Drug Saf* 2007; 30: 551-4.
  170. Motola D, Vargiu A, Leone R, Conforti A, Moretti U, Vaccheri A et al. Influence of regulatory measures on the rate of spontaneous adverse drug reaction reporting in Italy. *Drug Saf* 2008; 31: 609-16.
  171. Pariente A, Daveluy A, Laribiere-Benard A, Miremont-Salame G, Begaud B, Moore N. Effect of date of drug marketing on disproportionality measures in pharmacovigilance: the example of suicide with SSRIs using data from the UK MHRA. *Drug Saf* 2009; 32: 441-7.
  172. Stephenson WP, Hauben M. Data mining for signals in spontaneous reporting databases: proceed with caution. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2007; 16: 359-65.
  173. Hopstadius J, Noren GN, Bate A, Edwards IR. Impact of stratification on adverse drug reaction surveillance. *Drug Saf* 2008; 31: 1035-48.
  174. Evans SJ. Stratification for spontaneous report databases. *Drug Saf* 2008; 31: 1049-52.
  175. Wolbrette DL. Risk of proarrhythmia with class III antiarrhythmic agents: sex-based differences and other issues. *Am J Cardiol* 2003; 91: 39D-44D.
  176. Frothingham R. Rates of torsades de pointes associated with ciprofloxacin, ofloxacin, levofloxacin, gatifloxacin, and moxifloxacin. *Pharmacotherapy* 2001; 21: 1468-72.
  177. Shaffer D, Singer S, Korvick J, Honig P. Concomitant risk factors in reports of torsades de pointes associated with macrolide use: review of the United States Food and Drug Administration Adverse Event Reporting System. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 197-200.
  178. Owens RC, Jr., Nolin TD. Antimicrobial-associated QT interval prolongation: pointes of interest. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 1603-11.
  179. Justo D, Zeltser D. Torsades de pointes induced by antibiotics. *Eur J Intern Med* 2006; 17: 254-9.
  180. Falagas ME, Rafailidis PI, Rosmarakis ES. Arrhythmias associated with fluoroquinolone therapy. *Int J Antimicrob Agents* 2007.
  181. Justo D, Zeltser D. Torsade de pointes induced by systemic antifungal agents: lessons from a retrospective analysis of published case reports. *Mycoses* 2006; 49: 463-70.
  182. Haddad PM, Anderson IM. Antipsychotic-related QTc prolongation, torsade de pointes and sudden death. *Drugs* 2002; 62: 1649-71.

183. Titier K, Girodet PO, Verdoux H, Molimard M, Begaud B, Haverkamp W, et al. Atypical antipsychotics: from potassium channels to torsade de pointes and sudden death. *Drug Saf* 2005; 28: 35-51.
184. Testai L, Bianucci AM, Massarelli I, Breschi MC, Martinotti E, Calderone V. Torsadogenic cardiotoxicity of antipsychotic drugs: a structural feature, potentially involved in the interaction with cardiac HERG potassium channels. *Curr Med Chem* 2004; 11: 2691-706.
185. Calderone V, Testai L, Martinotti E, Del Tacca M, Breschi MC. Drug-induced block of cardiac HERG potassium channels and development of torsade de pointes arrhythmias: the case of antipsychotics. *J Pharm Pharmacol* 2005; 57: 151-61.
186. Astrom-Lilja C, Odeberg JM, Ekman E, Hagg S. Drug-induced torsades de pointes: a review of the Swedish pharmacovigilance database. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2008; 17: 587-92.
187. Pearson EC, Woosley RL. QT prolongation and torsades de pointes among methadone users: reports to the FDA spontaneous reporting system. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2005; 14: 747-53.
188. Krantz MJ, Rowan SB, Schmittner J, Bucher BB. Physician awareness of the cardiac effects of methadone: results of a national survey. *J Addict Dis* 2007; 26: 79-85.
189. Krantz MJ, Martin J, Stimmel B, Mehta D, Haigney MC. QTc interval screening in methadone treatment. *Ann Intern Med* 2009; 150: 387-95.
190. Bart G. Concerns about consensus guidelines for QTc interval screening in methadone treatment. *Ann Intern Med* 2009; 151: 218-9.
191. Girgis G. Concerns about consensus guidelines for QTc interval screening in methadone treatment. *Ann Intern Med* 2009; 151: 217-8.
192. Byrne A. Concerns about consensus guidelines for QTc interval screening in methadone treatment. *Ann Intern Med* 2009; 151: 216-9.
193. Cohen SP, Mao J. Concerns about consensus guidelines for QTc interval screening in methadone treatment. *Ann Intern Med* 2009; 151: 216-7.
194. Gregoire F, Pariente A, Fourrier-Reglat A, Haramburu F, Begaud B, Moore N. A signal of increased risk of hypoglycaemia with angiotensin receptor blockers caused by confounding. *Br J Clin Pharmacol* 2008; 66: 142-5.
195. Sugiyama A, Satoh Y, Takahara A, Nakamura Y, Shimizu-Sasamata M, Sato S, Miyata K, Hashimoto K. Famotidine does not induce long QT syndrome: experimental evidence from in vitro and in vivo test systems. *Eur J Pharmacol* 2003; 466: 137-46.
196. Lee KW, Kayser SR, Hongo RH, Tseng ZH, Scheinman MM. Famotidine and long QT syndrome. *Am J Cardiol* 2004; 93: 1325-7.
197. Nakamura Y, Takahara A, Sugiyama A. Famotidine neither affects action potential parameters nor inhibits human ether-a-go-go-related gene (hERG) K<sup>+</sup> current. *J Toxicol Sci* 2009; 34: 563-7.
198. Fisher AA, Davis MW. Prolonged QT interval, syncope, and delirium with galantamine. *Ann Pharmacother* 2008; 42: 278-83.
199. Takaya T, Okamoto M, Yodoi K, Hata K, Kijima Y, Nakajima H et al. Torsades de Pointes with QT prolongation related to donepezil use. *J Cardiol* 2009; 54: 507-11.

200. Tanaka A, Koga S, Hiramatsu Y. Donepezil-induced adverse side effects of cardiac rhythm: 2 cases report of atrioventricular block and Torsade de Pointes. *Intern Med* 2009; 48: 1219-23.
201. Slordal L, Spigset O. Heart failure induced by non-cardiac drugs. *Drug Saf* 2006; 29: 567-86.
202. Barbey JT. Cardiac toxicity of arsenic trioxide. *Blood* 2001; 98: 1632-4.
203. Hochberg AM, Hauben M. Time-to-signal comparison for drug safety data-mining algorithms vs. traditional signaling criteria. *Clin Pharmacol Ther* 2009; 85: 600-6.
204. Hochberg AM, Pearson RK, O'Hara DJ, Reisinger SJ. Drug-versus-Drug Adverse Event Rate Comparisons: A Pilot Study Based on Data from the US FDA Adverse Event Reporting System. *Drug Saf* 2009; 32: 137-46.
205. van Puijenbroek E, Diemont W, van Grootheest K. Application of quantitative signal detection in the Dutch spontaneous reporting system for adverse drug reactions. *Drug Saf* 2003; 26: 293-301.
206. Hauben M. Early postmarketing drug safety surveillance: data mining points to consider. *Ann Pharmacother* 2004; 38: 1625-30.
207. Anson BD, Weaver JG, Ackerman MJ, Akinsete O, Henry K, January CT et al. Blockade of HERG channels by HIV protease inhibitors. *Lancet* 2005; 365: 682-6.
208. Chinello P, Lisena FP, Angeletti C, Boumis E, Papetti F, Petrosillo N. Role of antiretroviral treatment in prolonging QTc interval in HIV-positive patients. *J Infect* 2007; 54: 597-602.
209. Damle B, Fosser C, Ito K, Tran A, Clax P, Uderman H et al. Effects of standard and suprathreshold doses of nelfinavir on cardiac repolarization: a thorough QT study. *J Clin Pharmacol* 2009; 49: 291-300.
210. FDA's Sentinel Initiative (online). Disponibile sul sito web <http://www.fda.gov/Safety/FDAsSentinelInitiative/default.htm>. Ultimo accesso 24 Settembre 2009.