

EL ENSAYO CLINICO: INVESTIGACION EXPERIMENTAL, FASES DE INVESTIGACION CLINICA Y DISEÑO EXPERIMENTAL (I PARTE)

*D. Sáenz Campos**, *M. C. Bayés***, *S. Martín****, *M. J. Barbanoj**

RESUMEN

Con el fin de promover la ejecución de proyectos de investigación y ofrecer una propuesta para uniformar criterios y formas, se presenta una revisión sobre el tema de la investigación médica haciendo énfasis en el ensayo clínico como medio de investigación clínica con carácter experimental.

Se define el ensayo clínico como una intervención experimental cuidadosa y éticamente planificada que resulta de la aplicación del método científico y cuya mayor consecuencia supone el avance en medicina. Mediante la realización de ensayos clínicos, se pretende la obtención sistemática y objetiva de información.

En esta revisión se describen los ensayos clínicos según su fase de desarrollo clínico, objetivos y metodología aplicada.

Se hace especial hincapié en los aspectos metodológicos inherentes al ensayo clínico "controlado" con distribución aleatoria así como en diversas consideraciones básicas sobre diseño experimental.

En una presentación posterior se exponen aspectos relativos a la elaboración de protocolos, a la estimación del tamaño de la muestra, a la comunicación de resultados y, finalmente, a los aspectos éticos más básicos. (Rev. Cost. Cienc. Méd. 1995; 16-4: 49-58).

Palabras Clave: Ensayo clínico, diseño, aleatorización.

I INTRODUCCION

La aplicación del método científico para resolver problemas en medicina sirve de fundamento para la adquisición de conocimientos basados en razonamientos inductivos, sistemáticos, críticos y objetivos. La observación cuidadosa permite la formulación de propuestas de interés que promueve el desarrollo de trabajos de investigación; éstos se llevan a cabo mediante dos perspectivas de índole ejecutiva, a saber: estudios observacionales y estudios experimentales.

En general, los trabajos observacionales (conocidos en algunos medios como descriptivos, analíticos o históricos) se caracterizan por la no intervención —por parte del investigador— sobre los sujetos o los pacientes de los cuales se obtiene la información. Por lo tanto, en estos estudios se recogen y agrupan datos de interés, con el fin de describir o caracterizar diversos hechos e intentar explicarlos.

Por el contrario, en los trabajos experimentales, al menos una de las variables estudiadas (sea una

* Departamento de Farmacología y Toxicología Clínica, Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica. Becaria por la Agencia Española de Cooperación Internacional y la Caja Costarricense de Seguro Social (CCSS) en el Area de Investigación Farmacológica del Instituto de Investigación del Hospital de la Santa Cruz y San Pablo (HSCSP); Servicio de Farmacología Clínica HSCSP, Barcelona, España.

** Area de Investigación Farmacología, Instituto de Investigación del HSCSP; Servicio de Farmacología Clínica, HSCSP; Departamento de Farmacología y Psiquiatría, Universidad Autónoma de Barcelona, España.

intervención, un tratamiento, un fármaco) se encuentra bajo el control del investigador. De este modo, se espera que la variable controlada constituya la única diferencia entre los grupos que se comparan, en tanto que cualquier influencia externa (o terceros factores) que pudiera interferir o enmascararla, se repartiera de forma equitativa mediante la distribución al azar de los sujetos (1,2).

En medicina, la investigación experimental que supone la participación de sujetos sanos o pacientes se denomina ensayo clínico. Los ensayos clínicos constituyen una investigación cuidadosa y éticamente planificada, llevada a cabo en el hombre con el propósito de documentar la seguridad, hacer más eficaz o encontrar el mejor tratamiento para el enfermo; o bien, para evitar la aparición de la enfermedad. En un sentido general en última instancia su fin es contribuir a mejorar la calidad de vida (3). Los ensayos clínicos, entonces, hacen referencia a toda aquella evaluación experimental generada para valorar la conveniencia de una intervención, entendiéndose ésta como un fármaco, un instrumento, un régimen o un procedimiento médico. La Declaración de Heisinki señala que "los objetivos de la investigación biomédica en el ser humano deben consistir en mejorar los procedimientos diagnósticos, terapéuticos y profilácticos, y en obtener mayores conocimientos acerca de la etiología y la patogenia de las enfermedades" (4).

En farmacología clínica y terapéutica, el ensayo clínico constituye el medio objetivo para sustentar el uso óptimo de los fármacos, y la eficacia y seguridad de las intervenciones terapéuticas. El desarrollo de ensayos clínicos permite conocer el perfil cinético y los efectos farmacológicos; establecer la eficacia terapéutica, profiláctica o diagnóstica; así como determinar la tolerabilidad, la seguridad y el perfil de reacciones adversas.

Ante un compuesto químico que ofrece una potencial utilidad terapéutica, los resultados del análisis experimental preclínico brindan elementos que orientan la evaluación del cociente beneficio/riesgo y el interés terapéutico potencial, condicionantes básicos para la realización ulterior de ensayos clínicos en grupos de sujetos sanos y de pacientes (5).

En vista de la relevancia que conlleva la realización de ensayos clínicos, a continuación se presenta una revisión sobre este tema. Se destacan diversos conceptos básicos relativos a las fases de investigación y se brindan directrices orientativas sobre diseño y metodología experimental. La presentación se continúa con aspectos relativos a la protocolización de proyectos, a la estimación del tamaño de muestra, y a la preparación de informes, complementado con unas consideraciones éticas finales.

II FASE DE INVESTIGACION CLINICA

La investigación clínica se puede describir en cuatro etapas o fases, según los objetivos que se pretendan alcanzar. Generalmente, las tres primeras etapas son previas a la autorización (registro) y disponibilidad masiva del producto (el fármaco, el aparato, el test, etc.) por parte del colectivo médico y de la sociedad, mientras que la última se refiere al producto una vez comercializado y disponible para el uso clínico habitual. Sin embargo, antes de cualquier intento de aplicación experimental en humanos es indispensable la realización de diversas pruebas conocidas como preclínicas. En caso de fármacos, abarca desde la participación farmacéutica (pruebas de estabilidad y formulación, entre otras) hasta la aplicación especializada de la farmacología

experimental para los estudios en modelos *in vitro* e *in vivo*. La administración en especies animales permite obtener resultados de índole toxicológica, farmacocinética descriptiva preliminar, de actividad farmacológica (farmacodinamia) y de aproximación al posible mecanismo de acción, entre otros (5).

FASE I

Son los primeros ensayos que se realizan en el ser humano. Generalmente, se llevan a cabo en grupos reducidos de sujetos sanos.

Uno de sus propósitos principales es evaluar la seguridad biológica (tolerabilidad) tras la administración única o subcrónica (pocas dosis repetidas). Para esto, se valoran los efectos sobre diversas funciones del organismo (cardiovascular, hematológica, gastrointestinal, así como sobre el sistema nervioso). Los ensayos de primera administración en el hombre y los ensayos dosis-respuesta, es recomendable llevarlos a cabo en condiciones abiertas o a simple ciego. Sin embargo, es frecuente realizar ensayos controlados (por ejemplo: comparados con placebo) y a doble ciego a fin de evitar sesgos en la caracterización de algunos efectos farmacológicos.

Otros ensayos clínicos se diseñan para obtener los perfiles, los parámetros y el comportamiento cinéticos. Diversos estudios se llevan a cabo con el fin de evaluar la farmacocinética tras diferentes dosis (cinética saturable, linealidad), vías de administración (absorción, biodisponibilidad, efecto de primer paso, circulación enterohepática, aclaramiento) (5-7), y formulaciones farmacéuticas (bioequivalencia); así como las interacciones con alimentos o con Otros fármacos, etc. (8). Como complemento a la investigación clínica en esta fase, en gran medida se promueve la validación

de métodos analíticos para la determinación y cuantificación de las concentraciones del fármaco y/o sus metabolitos en los fluidos biológicos (9).

También, los ensayos clínicos de Fase 1 se diseñan para describir o caracterizar el perfil dinámico del agente, con énfasis en la evaluación de los efectos y las respuestas farmacológicas que suponen un potencial interés ulterior. Esto se logra a través del análisis de los efectos mesurables atribuibles al agente mediante la aplicación de medios y técnicas de diversos tipos. Los ensayos clínicos tras dosis única o múltiple bajo esquemas de estudio dosis-respuesta, suelen considerar el ámbito de las dosis tolerables o potencialmente terapéuticas (5-7).

Con las valoraciones farmacodinámicas, un aspecto a tener en cuenta es que los resultados de los ensayos de fase I, por sí mismos, no predicen la eficacia que un compuesto puede exhibir en una determinada indicación terapéutica; es posible que tras la administración del fármaco en el sujeto sano no se induzcan cambios objetivables de interés terapéutico, a diferencia de las respuestas manifestadas en pacientes con patología específica, como sucede con los antiarrítmicos y los antidepresivos (5).

Como una excepción a los ensayos clínicos descritos como típicos de Fase I, cabe mencionar que algunos compuestos de interés terapéutico se ensayan directamente en pacientes, debido a que su evaluación en sujeto sano estaría limitada por su alta toxicidad; esto suele ocurrir con antineoplásicos e inmunosupresores (5,7).

FASE II

Se caracterizan por ser estudios de aplicación terapéutica en pequeños grupos de pacientes muy seleccionados

y homogéneos. Su propósito básico es demostrar la posible eficacia en pacientes con la enfermedad para la cual se pretende promover la utilización clínica del agente.

Los ensayos clínicos en esta fase, se llevan a cabo para obtener elementos cinéticos y dinámicos que permitan elegir dosis (o los rangos de dosis) y/o regímenes apropiados para su futura prescripción. Si es posible, también sirven para establecer relaciones dosis-respuesta terapéutica y con ello proveer un sustento óptimo para el diseño ulterior de grandes ensayos.

Asimismo, se diseñan con el fin de ensayar la seguridad de su administración a corto plazo y obtener descriptores farmacocinéticos comparativos (a partir de los obtenidos en fase I) con grupos de población diversa (por ejemplo: ancianos, nefrópatas, niños) (7,10,12).

Como estos ensayos se llevan a cabo con un limitado número de pacientes, es conveniente que se efectúen de acuerdo a un diseño comparativo (por ejemplo: controlados con placebo o con una terapéutica estándar). Siempre que sea posible, el diseño deberá ser a doble ciego, ya que los estudios abiertos producen más resultados falso-positivos o bien, más sesgos (6,7,11,13).

FASE III

Cuando los resultados de los estudios de fase I y II demuestran que el nuevo agente es razonablemente seguro y potencialmente eficaz, o bien, que puede ofrecer beneficios que superan cualquier riesgo observado, se lleva a cabo una investigación clínica más extensa. En principio, las circunstancias de realización deberán ser lo más cercanas a las que, según se presume, serán las condiciones de uso clínico. Es

por ésto que los ensayos clínicos intentan confirmar si, en realidad, el agente modifica la historia natural de la enfermedad, es decir; si es eficaz.

Los ensayos de fase III se llevan a cabo con grupos más numerosos y heterogéneos de pacientes, y con menos criterios de exclusión que los de fase II. El propósito es determinar el balance de seguridad/eficacia a corto o medio plazo: es decir, aceptar el riesgo/beneficio de las formulaciones que contienen el agente activo, así como predefinir su valor terapéutico potencial y relativo (su lugar como parte del arsenal medicamentoso disponible).

Adicionalmente, con estos ensayos se intenta ampliar el perfil de seguridad y tolerabilidad. Se documentan los efectos colaterales y las reacciones adversas "más frecuentes" (definidas por una incidencia > 1/1 000); así como otras facetas especiales del producto por medio de los estudios especializados dictados por el perfil farmacológico: los que evalúan interacciones clínicamente relevantes, los que analizan factores cinéticos que pueden producir diferencias en las respuestas, entre otros (7,10 - 12).

A efecto de obtener una mayor validez de los resultados, es recomendable que el ensayo se diseñe y realice de acuerdo con una administración a doble ciego, controlada (o comparada) con el tratamiento estándar y con distribución aleatoria de los pacientes. Sin embargo, otros diseños (abiertos o a simple ciego) podrían ser aceptables, caso de algunos estudios de seguridad a medio plazo (6,7,10).

En esta fase se incluyen los denominados "estudios humanitarios", que se llevan a cabo en pacientes graves, lo que permite un rápido desarrollo del proceso de investigación de nuevos agentes con potencial terapéutico (11,12). Se facilita la disposición del agente bajo una condición o enfermedad crítica (por ejemplo, en pacientes con

Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida, SIDA). La evaluación se inicia con ensayos de fase III y se diseñan para obtener, conjuntamente, datos sobre seguridad y eficacia (14,15).

FASE IV

En este nivel se llevan a cabo estudios toda vez que el producto farmacéutico ha sido comercializado, y por lo tanto, puesto a disposición masiva. La necesidad de completar la descripción de las características farmacoterapéuticas, tras la exposición de grandes grupos poblacionales, promueve la realización de diversos tipos de estudios de utilización de medicamentos. Cabe destacar los estudios de farmacovigilancia y los farmacoeconómicos (costo/beneficio, costo/utilidad, costo/efectividad, minimización de costos, etc.) en general, estos análisis contribuyen a establecer la eficacia terapéutica real, la seguridad a largo plazo (reacciones adversas), la optimización de los recursos disponibles y el impacto sobre la calidad de vida de la población (16,17).

En Fase IV, tienen carácter de ensayo clínico aquellas investigaciones que se diseñan para explorar la optimización de los recursos terapéuticos disponibles (por ejemplo; nuevas indicaciones terapéuticas, interacciones farmacológicas y nuevas formulaciones) (7,12,13).

Finalmente, hace algunos años se propuso una quinta fase cuya definición y propósitos aún genera controversia. Los ensayos clínicos que se incluirían en esta fase corresponderían a los llevados a cabo con fármacos propiamente dichos, no con productos en fase de investigación. Es decir, cuando se aplican las indicaciones oficialmente descritas en la ficha técnica del fármaco, de modo que no supone alteración alguna del esquema de dosificación, de la

formulación, o bien, de cualquier otro aspecto que pudiera conllevar un cambio significativo en la "publicidad" del fármaco (12). En términos muy generales, se aplicaría a aquellos ensayos clínicos cuyo objetivo es evaluar la eficacia y la seguridad relativa entre diversos productos ya comercializados, y que, característicamente serían de corta duración, con pacientes o sujetos sanos y bajo diseños abierto o a doble ciego (11,12,); los ensayos de bioequivalencia farmacéutica con productos genéricos podrían incluirse en esta fase.

III. GENERALIDADES SOBRE DISEÑO EXPERIMENTAL

Los ensayos clínicos se diseñan con el fin de comparar, en forma clara y objetiva, los resultados que se obtendrán con una nueva intervención frente a los de la terapéutica estándar. De esta comparación deriva su atributo de ensayo clínico controlado. El control implica un grupo con terapéutica estandarizada, con placebo, o bien, sin ninguna intervención activa (3,18).

a) Relativo a los grupos

La asignación aleatoria contempla la adjudicación de los tratamientos objeto de estudio para los dos, tres o más grupos de pacientes que propone el ensayo clínico, así como la integración misma de los grupos. Si los grupos son equivalentes en varios aspectos importantes, cualquier diferencia encontrada tras la ejecución del ensayo no debe atribuirse a terceros factores (2,19).

La asignación al azar (aleatorización) para la constitución de los grupos favorece la distribución homogénea de los participantes, y de sus características individuales, entre los diferentes trata-

mientos, a fin de lograr una minimización de los sesgos o errores (20,21).

Idealmente, los miembros de los grupos incluidos en los ensayos deberían ser representativos de una población específica de pacientes, lo que permitiría una extrapolación posterior de los resultados a la misma población (22).

b) Relativo a la intervención

En ensayos cuyo objetivo es la evaluación de la eficacia terapéutica, se consideran más adecuados los diseñados a **doble ciego**. En éstos, ni el participante ni el médico investigador (y quien valora las respuestas) conocen la asignación ni el orden de los tratamientos administrados. Este tipo de diseño permite una distribución más equitativa de las expectativas y de los posibles resultados falsos positivos (o negativos) (2,20), tanto en lo referente a la contribución de los pacientes como del investigador (20,23). Con frecuencia se informa como triple ciego al referir la realización del análisis estadístico bajo la misma directriz.

Como alternativa, los ensayos a simple ciego son aquellos en los cuales el paciente no conoce cuál de los tratamientos en estudio se le ha asignado (y en consecuencia, recibe) mientras que, quien los administra sí. Sin embargo, el conocimiento de la distribución por parte del investigador puede hacer que se incurra en sesgos ante cualquier inclinación o preferencia, especialmente cuando las medidas de evaluación utilizadas no son lo suficientemente objetivas y precisas (2,20).

Como otra alternativa, los ensayos se describen como **abiertos** cuando ambas partes (el paciente y el médico investigador) conocen qué tratamiento se administra en ese momento como parte del estudio (24). Pueden ser abiertos los ensayos clínicos cuyo

objetivo principal radica en la caracterización farmacocinética de algún fármaco de interés, tanto en sujetos sanos como en pacientes. En algunas ocasiones, la evaluación de la eficacia sólo puede realizarse de esta forma —sin carácter ciego—: cuando el ensayo clínico valora ciertas técnicas quirúrgicas, algunos esquemas con radioterapia o de quimioterapia antineoplásica, por ejemplo (2,25,26).

Para llevar a cabo un ensayo a doble ciego en forma óptima, se emplean procedimientos que garantizan el mantenimiento de esta condición durante todo el estudio. La distribución de las intervenciones se debe codificar y preparar con la colaboración de terceras personas, frecuentemente un farmacéutico experimentado si se trata de una intervención farmacológica. Para que los diversos productos resulten físicamente indistinguibles (y se conserve el carácter ciego) en el momento de la administración, se emplean técnicas de enmascaramiento y/o de doble simulación. El **enmascaramiento** consiste en la disposición de los tratamientos con iguales características externas (por ejemplo: forma farmacéutica y etiqueta idénticas). La **doble simulación** (“doble-dummy”) implica la administración de un placebo con idénticas características externas al tratamiento activo cuando la forma de presentación, la frecuencia o vía de administración son diferentes entre el grupo experimental y el grupo control (24,27).

Sin embargo, al margen de la buena intención por parte del investigador para mantener el carácter ciego del ensayo, conviene recordar que la pérdida de esta condición es posible, debido a ciertas circunstancias como la aparición de efectos colaterales previsibles y específicos. Además, ante la aparición de acontecimientos adversos moderados o graves, con frecuencia es necesario

conocer qué tratamiento concreto está (o estaba) siendo administrado para procurar un manejo óptimo (26).

c) Relativo a la aplicación de tratamientos y sujetos

Como principio básico, en los ensayos clínicos se pretende comparar y de aquí deriva su carácter de estudio controlado (salvo en los ensayos de primera administración en humanos y de dosis-respuestas de Fase I). Un análisis comparativo de las observaciones conlleva la necesidad de un grupo control respecto a la variable principal. Los más simples son el diseño cruzado y el diseño en paralelo, pero otros como los secuenciales, los factoriales y los adaptativos entre otros, son posibles (28).

En ensayos clínicos controlados, se entiende por diseño **cruzado** cuando todas las intervenciones propuestas serán administradas a todos los participantes durante el ensayo; como este esquema permite que cada sujeto sea su propio control, conlleva una disminución relativa de la variabilidad interindividual, y por lo tanto, el tamaño de la muestra puede ser menor.

La administración cruzada del tratamiento se hace en períodos distintos cuya sucesión temporal debe determinarse, usualmente, de forma aleatoria (diseño en bloque aleatorios, cuadrado latino greco-latino, etc). En estos casos, la administración de los tratamientos deberá estar separada con un período intermedio de "lavado" o blanqueo "wash-out" (con placebo o sin tratamiento alguno). La duración de este período es variable, se establece de acuerdo con la patología en estudio (por ejemplo: estabilización clínica, recuperación de función renal) o bien, para cada agente farmacológico según tiempo de vida media de eliminación

$X(t^{1/2})$ (lo más frecuente es siete días como intervalo mínimo). Estos períodos controlan la posible acumulación (efecto "carry-over") ante segundas o terceras sesiones de tratamiento, o previenen algunos sesgos derivados de partir de condiciones clínicas desiguales.

Puesto que no siempre es posible llevar a cabo estudios cruzados, la alternativa más frecuente es optar por un diseño **en paralelo**. Entonces, se requieren tantos grupos de pacientes como número de tratamientos se pretende evaluar, además del grupo control o de referencia (21).

Con este diseño, los grupos serán evaluados a través del tiempo, de acuerdo con lo descrito en el protocolo y sin modificar la distribución de los tratamientos entre los sujetos incluidos en cada grupo. La intervención debería ser a doble ciego y simultánea en el tiempo, a fin de disminuir los sesgos.

d) Relativos a los centros participantes

El diseño en paralelo es muy típico de los ensayos en fase III y, como es previsible, se requiere una gran cantidad de pacientes para asegurar la representatividad de la muestra y la obtención de conclusiones válidas; por esta razón, es frecuente la participación de varios centros de investigación para llevar a cabo estos estudios.

Se describen como ensayos **multicéntricos** aquellos en los cuales, dos o más entidades (hospitales, clínicas, unidades de investigación u otros) participan en la realización experimental; se llevan a cabo bajo la directriz de un mismo protocolo y al amparo de un centro coordinador, responsable de la supervisión general del ensayo clínico.

Como alternativa, un ensayo **unicéntrico** es aquel que se lleva a cabo con pacientes o sujetos sanos incluidos a partir de un único centro u hospital (24,26,27).

CONCLUSION

Una buena planificación, un diseño adecuado (asignación al azar y carácter ciego) y una fase experimental bien dirigida contribuyen a realizar el contraste de hipótesis de forma más fidedigna. Sin embargo, la fase experimental de un ensayo clínico requiere la elaboración previa de un protocolo de investigación clínica que señale los objetivos que se pretenden, y que describa, con detalle y precisión; aspectos tan diversos como el tamaño muestral, los criterios de inclusión/exclusión, las variables objetos de estudio, el análisis de los datos, entre otros (se describen en una segunda parte).

Finalmente, es conveniente tener en cuenta que todo aquel proyecto de investigación que carezca de un posible aporte científico, que exponga a los pacientes (o sujetos sanos) a un riesgo excesivo, que nos sea acertado en el diseño y la valoración de variables o su análisis, o cuyos procedimientos o resultados no procuren una contribución al avance médico, terapéutico o científico, resultan éticamente injustificados y lógicamente inaceptables para ser promocionados por investigadores e instituciones.

ABSTRACT

In order to promote research designs and to standardize some methods, we have made a review of medical research and, specially, of clinical trials as a usual method in experimental clinical research.

The clinical trial is an experimental intervention, carefully and ethically planned, which is a consequence of the scientific method applied and which means an advance in Medicine. With these clinical trials we want to obtain systematic and objective information.

In this review, clinical trials are described having into account the different phases in development of clinical research, their objectives and, specially, the methodology applied.

Controlled clinical trials are described in terms of random distribution and in other aspects of experimental design.

In a later review, we explain how to elaborate research protocols, estimate the sample size, give the results and the basic ethical points of view.

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. F. Jané Carreña, Jefe del Servicio de Farmacología Clínica, por sus oportunos comentarios y correcciones al borrador de este manuscrito; a la señorita M^oA. Funes por la asistencia ofimática en las versiones intermedias y final, así como a todo el equipo de colaboradores del Área de Investigación Farmacológica, Instituto de Investigación del Hospital de la Santa Cruz y San Pablo.

REFERENCIAS

1. Sentís J, Ascaso C, Vallés A, Canela J: Introducción. En: *Licenciatura Bioestadística*. Barcelona: 1992, Ed Masson-Salvat, 1-15.
2. Armitage P, Berry C: Planificación de las investigaciones estadísticas. En: *Estadística para la Investigación biomédica*. Barcelona: 1992, Ed. Doyma, 187-216.
3. Jané F: El ensayo clínico controlado. *Arch Bronconeum* (Barc) 1986; 22:103-5.
4. Declaración de Helsinki *Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects* adopted by the XVIII World

- Medical Assembly, Helsinki, June 1964, amended by the XXIX World Medical Assembly, Tokio October 1975, and the XLI World Medical Assembly, Hong Kong, September 1989.
5. Torrent J, Barbanoj M, Izquierdo I, Jané F: Infraestructura y métodos de investigación en una unidad de fase I. *Rev Farmacol Clin Exp* 1990; 7 (Supl.): 11-9.
 6. Spilker B: Designing the overall project. In: *Guide to planning and managing multiple clinical studies* New York: Raven Press, 1987; 34-62.
 7. Commission of the European Communities (CEC): Good Clinical Practice for Trials on Medicinal Products in the European Community (The Rules Governig Medicinal products in the European Community I, 1989). *Pharmacol Toxicol* 1990; 67:361-72.
 8. Gibaldj M: *Bioavailability En: Biopharmaceutics and clinical pharmacokentics* (fourth edition). Philadelphia: 1991, Lea & Febinger, 146-75.
 9. Shah V, Midha KK, Dighe S, Mc Gilveray IJ et al: Analytical methods validation: Bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. *Eur J Drug Metab, Pharmacokjn* 1991; 16:249-55.
 10. American Medical Association (Eds): Prescription practices and regulatory agencies. In: *American Medical Association, Drug Evaluations Annual*. Milwaukee: 1991, American Medical Association, 1-15.
 11. Harry J: Discovery and development of a new drug. *Prescribers 'J* 1991; 31:221-6.
 12. Baine MJ: A system for handling unsolicited Postmarketing study proposals. *Drug Informat J* 1993; 27: 367-75.
 13. Pocock S: *Clinical Trials*. Avon: 1989 The Beth Press, 372 pp.
 14. Young F, Norris J, Levitt J, Nightingales S: The FDA's new procedures for the use of investigational drugs in treatment. *JAMA* 1988; 259:2267-70
 15. Veatch R: Drug research in humans: The ethics of nonrandomized access. *Clin Pharm* 1989; 8: 366-70.
 16. Fernández P: Farmacoeconomía: Metodología de los análisis de costo-efectividad y coste-beneficio (2º parte). *Farm Clin* 1990;7:296-305.
 17. Freund DA, Dittus RS: Principles of pharmacoeconomic analysis of drug therapy. *FarmacoEconomics* 1992; 1:20-32.
 18. Pleger G: The role o a placebo-treated control group in combination drug trials. *Controlled Clin Trials* 1989; 1: 97 - 107
 19. Day SJ, Graham DF: Sample size and power for comparing two o more treatment groups in clinical trials. *Br Med J* 1989;299:663 - 5.
 20. Altman D, Dore C: Asignación al azar y comparaciones de las basales en los ensayos clínicos. *Lancet* (ed esp.) 1990; 1: 149 - 53.
 21. Lachin JM, Matts JP, Wei LJ: Randomizations in Clinical Trials: Conclusions and Recommendations *Controlled Clin Trials* 1988;9: 365 - 74.
 22. Kern U: Problems of generalization of findings. Regulatory attitudes. *Eur Psychiatry* 1994; 143-4.
 23. Rein W, Morselli PL: Patient sampling in anxiety in studies: factors influencing response rate. *Eur Psychiatry* 1994; 9: 137-9.
 24. Galende I, Grupo de trabajo sobre terminología: Glosario de términos de ensayos clínicos. En García F, Bakke OM (Eds): *Metodología del ensayo clínico*. Barcelona: 1991, Ed. Doyma, 113-6.

25. Shuster JJ: Design and analysis of randomized clinical trials. En: *Handbook of sample size guidelines for clinical trials*. Boca Ratón: 1990, CRC Press Inc, 9-49.
26. García F, Bakke OM (Eds): *Metodología del ensayo clínico* Barcelona: 1991, Ed Doyma, 88pp.
27. Laurence DR, Shaw IC: *Un glosario para farmacólogos*. Barcelona: 1987, Ed. Doyma, 100 pp
28. Altman D: *Practical statistics for medical research*, London; 1991, Chapman & Hall Press, 611 pp.