

## Design und Durchführung klinischer Studien: *Bericht des Diagnostic Methodology Subcommittee des International Dry Eye WorkShops (2007)*

**ZUSAMMENFASSUNG** Dieser Bericht enthält einen Überblick über universelle Konzepte für klinische Studien im Allgemeinen und über Aspekte spezifischer klinischer Studien, in denen therapeutische Interventionen beim Trockenen Auge untersucht werden. Der Bericht gibt außerdem Empfehlungen für ein logistisches Konzept und die Implementierung derartiger Studien. Es werden beim Trockenen Auge zu beachtende Besonderheiten diskutiert, die das Design der klinischen Studie erschweren, wie z. B. fehlende Korrelation zwischen Anzeichen und Symptomen sowie die Wahrscheinlichkeit, dass Kontrollinterventionen einen Gleitmittel-(Placebo)-Effekt haben. Strategien für Umweltstudien und Controlled-Adverse-Environment-Studien (Kontrollierte Umweltbelastungen) werden diskutiert.

**SCHLÜSSELWÖRTER** Klinische Studien, DEWS, Trockenes Auge, Dry Eye Workshop

### I. EINLEITUNG

**K**linische Untersuchungen des Trockenen Auges stellen sowohl für Kliniker, Epidemiologen und Biostatistiker wie auch für die Antragsteller behördlich geregelter Zulassungen von Arzneimitteln und anderen Therapien eine Herausforderung dar.<sup>1</sup> Dieser Bericht gibt einen Überblick über universelle Konzepte für klinische Studien im Allgemeinen und Aspekte spezifischer klinischer Studien, in denen therapeutische Interventionen beim Trockenen Auge untersucht werden. Der Evidenzgrad für die Unterstützung von Daten aus klinischen Studien wird in der

Zur Veröffentlichung angenommen im Januar 2007.

Mitglieder des Subkomitees für klinische Studien: **Kazuo Tsubota, MD (Chair)**; Penny Asbell, MD; Murat Dogru, MD; Desmond Fonn, OD; Gary Foulks, MD (Leitung); Debra Schaumberg, ScD, OD, MPH; Oliver Schein, MD, MPH; Hitoshi Watanabe, MD.

Die eigentumsrechtlichen Beziehungen der Subkomiteemitglieder werden auf Seite 202 und 204 offengelegt.

Kein Nachdruck verfügbar. Die Artikel sind unter [www.tearfilm.org](http://www.tearfilm.org) abrufbar.

Ansprechpartner in Verbindung mit diesem Kapitel des DEWS-Berichts: Kazuo Tsubota MD, Ophthalmology, Keio University School of Medicine, 35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8582, Japan. Tel.: 81-3-3353-1211. Fax: 81-3-3352-8703. E-Mail: [tsubota@sc.itc.keio.ac.jp](mailto:tsubota@sc.itc.keio.ac.jp)

©2007 Ethis Communications, Inc. *The Ocular Surface* ISSN: 1542-0124. (Keine Autorenauflistung). Design und Durchführung klinischer Studien: Bericht des Clinical Trials Subcommittee des International Dry Eye Workshop (2007). 2007;5(2):153-162.

Bibliographie angegeben und entspricht den modifizierten „Preferred Practices“-Richtlinien der American Academy of Ophthalmology. Der Bericht gibt außerdem Empfehlungen für ein logistisches Konzept und die Implementierung derartiger Studien.

### II. ZIELE DES CLINICAL TRIALS SUBCOMMITTEE (SUBKOMITEE FÜR KLINISCHE STUDIEN)

Das Clinical Trials Subcommittee hatte folgende Ziele: Systematische Durchsicht von Literatur, Verfahrensweisen und Konzepten im Zusammenhang mit klinischen Studien im Allgemeinen, Betrachtung spezieller Faktoren im Zusammenhang mit klinischen Untersuchungen von therapeutischen Interventionen bei Trockenem Auge und Präsentation von Richtlinien für die erfolgreiche Durchführung klinischer Studien.

### III. ALLGEMEINE RICHTLINIEN FÜR KLINISCHE STUDIEN

Vor der Konzeption einer klinischen Studie muss ein Gleichgewicht vorhanden sein. Das bedeutet, dass ausreichend Zweifel über die Effektivität der jeweiligen Intervention bestehen müssen, um zu rechtfertigen, dass diese einem Teil der Studienteilnehmer vorenthalten wird, und dass gleichzeitig ausreichend Vertrauen in das therapeutische Potential der Intervention gegeben ist, um deren Testung am verbleibenden Teil williger und geeigneter Studienteilnehmer zu rechtfertigen. Sind diese Bedingungen erfüllt, muss für das Design und die Durchführung der klinischen Studie eine Anzahl weiterer Faktoren berücksichtigt werden, damit gültige Ergebnisse erzielt werden können (Tabelle 1). Dazu zählen: Formulierung einer präzisen und spezifischen Studienfragestellung, Spezifizierung des primären Ergebnisparameters, statistische Schätzung der erforderlichen Stichprobengröße, Spezifizierung des Nachbeobachtungszeitraums und des genauen Terminplans für Baseline- und Nachsorgeuntersuchungen, Auswahl der Studienpopulation, Definition des primären Ergebnisparameters, randomisierte Zuordnung der Intervention(en)/Behandlung(en), Aufstellung von Strategien zur Erhaltung der Compliance bei den zugeordneten Intervention(en)/Behandlung(en) und für das Erreichen hoher und ausgeglichener Nachbeobachtungsraten. Darüber hinaus ist es wichtig, eine Organisations- und Entscheidungsstruktur zu errichten und spezifische Verfahrensweisen für die Datenerfassung und die Überwachung der Partientsicherheit festzulegen.

**ÜBERBLICK**

- I. Einleitung
- II. Ziele des Clinical Trials Subcommittee (Subkomitee für klinische Studien)
- III. Allgemeine Richtlinien für klinische Studien
  - A. Design
  - B. Einschluss- und Ausschlusskriterien
  - C. Ergebnisparameter
  - D. Stichprobengröße, Randomisierung und Datenanalyse
  - E. Verwaltung einer klinischen Studie
- IV. Richtlinien für klinische Studien des Trockenen Auges
- V. Beobachtungen aus früheren klinischen Studien des Trockenen Auges
  - A. Besonderheiten klinischer Studien des Trockenen Auges
  - B. Auswertung und Outcome-Parameter
  - C. Empfohlene Attribute von Studien des Trockenen Auges
- VI. Merkmale zur Erleichterung multizentrischer und internationaler kollaborativer klinischer Studien

**A. Design**

Das für eine klinische Studie erstrebenswerteste Design ist die randomisierte, doppelblinde, placebo- oder vehikelkontrollierte Parallelgruppen- oder Crossover-Studie. Andere akzeptable Designs sind Äquivalenz- oder Überlegenssstudien, um eine neue Therapie mit einer bereits zugelassenen oder allgemein verwendeten zu vergleichen. Solche Studien müssen ebenfalls als prospektive, randomisierte, verblindete Studien konzipiert werden.<sup>2-5</sup> Parallelgruppenstudien sollten idealerweise im Hinblick auf Demographie und Umwelt- bzw. Klimaeinflüsse vergleichbar sein. Bei ausreichender Stichprobengröße kann eine Randomisierung die gleichmäßige Verteilung demographischer Eigenschaften über die Behandlungsgruppen hinweg gewährleisten. Sollten im Bezug auf einen oder mehrere demographische Faktoren (z. B. Geschlecht, Alter) Bedenken

**Tabelle 1.** Attribute einer gut ausgearbeiteten klinischen Studie

1. Formulierung einer präzisen und spezifischen Studienfragestellung
2. Spezifikation eines primären Ergebnisparameters
3. Statistische Schätzung der erforderlichen Stichprobengröße
4. Spezifizierung des Nachbeobachtungszeitraums und des genauen Terminplans für Baseline- und Nachsorgeuntersuchungen
5. Auswahl der Studienpopulation
6. Definition des primären Ergebnisparameters
7. Randomisierte Zuordnung der Intervention(en)/Behandlung(en)
8. Aufstellung von Strategien zur Erhaltung der Compliance bei den zugeordneten Intervention(en)/Behandlung(en) und für das Erreichen hoher und ausgeglichener Nachbeobachtungsraten
9. Errichtung einer Organisations- und Entscheidungsstruktur
10. Spezifizierung von Verfahrensweisen für die Datenerfassung und die Überwachung der Patientensicherheit

vorliegen, kann eine gleichmäßige Verteilung dieser Faktoren auf alle Behandlungsgruppen durch Blockrandomisierung erreicht werden. Die Implementation dieser Methode ist im Allgemeinen jedoch leider unpraktisch und erhöht die Patientenzahl, die für den Eintritt in die Studie gescreent werden muss, beträchtlich.

Allgemein haben Crossover-Designs den Vorteil, dass sie den Patienten als eigene Kontrolle verwenden. Allerdings bergen sie auch mögliche Probleme, wenn es, wie beim Trockenen Auge, möglich ist, dass der anhaltende Effekt einer Behandlung den einer anderen überdauert. Interferiert eine Behandlung mit einer anderen, so sind die sequentiellen Effekte von Testmedikationen oder -behandlungen möglicherweise nicht klar voneinander abzugrenzen. Einer Crossover-Studie liegen drei Annahmen zugrunde:

- 1) Durch die Behandlung wird die Krankheit nicht geheilt.
- 2) Zwischen unterschiedlichen Perioden gibt es keinen Carryover-Effekt.
- 3) Um in die Auswertung aufgenommen zu werden, müssen alle Patienten alle Perioden abschließen.

Der vermeintliche Vorteil einer Crossover-Studie gegenüber einer Parallelstudie basiert auf der Annahme, dass die *Intra*-Patienten-Variabilität geringer ist als die *Inter*-Patienten-Variabilität. Dies ist aber nicht immer der Fall. Mithilfe von Auswaschperioden mit einer Placebobehandlung können andauernde Effekte einer vorausgegangenen Therapie aufgehoben werden, doch muss die Auswaschperiode ausreichend lang sein, um ein effektives Auswaschen erzielen zu können. Welcher Zeitraum dafür ausreicht, ist möglicherweise unbekannt oder variiert in Abhängigkeit von den jeweils getesteten Wirkstoffen. Angesichts dieser Bedenken besteht eine wichtige kompensatorische Designstrategie für Crossover-Studien in der Randomisierung der Reihenfolge, in der Test- und Kontrollwirkstoffe verabreicht werden. So erhalten einige Personen zuerst die aktive Therapie und andere zuerst die Kontrolltherapie.

**B. Einschluss- und Ausschlusskriterien**

Geeignete Einschluss- und Ausschlusskriterien sind im Hinblick auf die Zuverlässigkeit einer Studie unentbehrlich. Einschlusskriterien müssen eine Anzahl geeigneter Variablen identifizieren, um insbesondere die zu untersuchende Population der Studie zu definieren (Tabelle 2). Zu solchen Kriterien gehören im Allgemeinen 1) die Fähigkeit der Teilnehmer, eine Einwilligungserklärung abzugeben,

**Tabelle 2.** Einschlusskriterien für klinische Studien

1. Studienteilnehmer müssen in der Lage sein, eine Einwilligungserklärung abzugeben.
2. Teilnehmer müssen in der Lage sein, den Prüfplan zu befolgen.
3. Die Schwere der Krankheit muss ausreichend sein, um einen statistisch signifikanten und klinisch bedeutenden Effekt der Therapie zu demonstrieren.
4. Im Hinblick auf einen homogenen Krankheitsstatus müssen spezifische diagnostische Kriterien definiert werden, um die Präzision der Studie erhöhen zu können.
5. Teilnehmer müssen auf den vermuteten Wirkmechanismus der zu untersuchenden Intervention ansprechen können.

**Tabelle 3.** Ausschlusskriterien für klinische Studien

1. Die Teilnehmer leiden gleichzeitig an Krankheiten, aufgrund derer das Ansprechen auf die Therapie beeinträchtigt werden kann.
2. Wahrscheinlichkeit, dass die Teilnehmer den Prüfplan nicht einhalten oder für die Verlaufsbeobachtung nicht mehr zur Verfügung stehen.
3. Bei den Teilnehmern liegt eine bekannte Überempfindlichkeit oder Unverträglichkeit gegenüber der vorgeschlagenen Therapie vor.
4. Teilnehmer erhalten gleichzeitig eine andere Behandlung, welche die Tränenfunktion oder die Integrität der Augenoberfläche beeinflusst.
5. An den Teilnehmern wurde zu einem früheren Zeitpunkt ein chirurgischer Eingriff oder eine andere Manipulation am Auge vorgenommen, aufgrund derer die Outcome-Parameter beeinträchtigt werden können oder der Wirkmechanismus der zu untersuchenden Intervention gestört werden kann.

2) die Fähigkeit, das Protokoll einzuhalten und 3) ein Krankheitsstadium, der einen statistisch signifikanten und klinisch bedeutsamen Therapieeffekt zulässt. Im Hinblick auf einen homogenen Krankheitsstatus werden gewöhnlich spezifische diagnostische Kriterien definiert. Dadurch kann die Präzision der Studie erhöht werden.

Ausschlusskriterien können verwendet werden, um z. B. folgende Personen auszuschließen: 1) Teilnehmer mit gleichzeitig bestehenden anderen Erkrankungen, aufgrund derer das Ansprechen auf die Therapie beeinträchtigt werden kann, 2) Teilnehmer, die voraussichtlich das Protokoll nicht befolgen können oder für die Verlaufsbeobachtung nicht mehr zur Verfügung stehen, und 3) Teilnehmer mit bekannter Hypersensibilität oder Unverträglichkeit gegenüber der vorgeschlagenen Therapie (Tabelle 3).

Bei der Auswahl von Einschluss- und Ausschlusskriterien muss der Prüfarzt den grundsätzlich erforderlichen Ausgleich zwischen der internen Validität der Studie und ihrer allgemeinen Anwendung auf größere Populationen, die von der zu untersuchenden Krankheit betroffen sind, berücksichtigen. Minimal restriktive Einschluss- und Ausschlusskriterien erleichtern die Rekrutierung und bilden eine breitere Basis für die Generalisierung der Studienergebnisse, die Behandlungseffekte können jedoch durch die Heterogenität des Krankheitsstatus verschleiert werden.

### C. Ergebnisparameter

Der für den Vergleich der Behandlungen benutzte Ergebnisparameter kann entweder ein klinisches Ereignis oder eine Surrogat-Zielgröße sein. Der primäre Ergebnisparameter sollte vor Beginn der Datenerfassung festgelegt werden, da die Häufigkeit seines Auftretens sich auf unterschiedliche Aspekte des Studiendesigns, darunter auch die Dauer der Studie und die Stichprobengröße, auswirkt. Obwohl in einigen Studien post-hoc-Auswertungen der Ergebnisvariablen durchgeführt wurden, sind behördliche Institutionen oftmals nicht gewillt, in Schlüsselstudien derartige Analysen zu akzeptieren. In den meisten Studien ist es ohnehin angemessen, zusätzlich Informationen über eine Anzahl von sekundären Ergebnisparametern zu sammeln und auszuwerten. Dadurch können weitere Informationen

verfügbar werden, die möglicherweise zur Gesamtbewertung der Studienbehandlungen beitragen.

Surrogat-Ergebnisparameter sind messbare Kennzeichen der Krankheit, die einen Outcomeparameter, der klinisch relevant, aber schwierig präzise zu bestimmen ist, verlässlich widerspiegeln. Die Frequenz der erforderlichen Applikation lindernder Tropfen kann zum Beispiel ein quantifizierbares, subjektives Surrogatkriterium der Frequenz/Dauer von tagsüber auftretenden Beschwerden sein. In ähnlicher Weise könnte die elektrische Leitfähigkeit einer Tränenflüssigkeitsprobe als objektives Surrogatkriterium der Osmolarität des Tränenfilms dienen. Ein Surrogat-Ergebnisparameter muss als verlässliches und relevantes Kriterium der Outcome-Messung validiert werden, er kann jedoch bei einer Erkrankung wie dem Trockenen Auge, wo Anzeichen und Symptome nur schwach korrelieren und objektive Nachweise von Krankheitsveränderungen notwendig sind, von ganz besonderem Wert sein.

### D. Stichprobengröße, Randomisierung und Datenanalyse

Die Stichprobengröße in einer klinischen Studie sollte eine statistisch aussagekräftige Analyse der primären Studienhypothese erlauben. Sie kann auch statistische Vergleiche innerhalb von Untergruppen ermöglichen, falls dies für die Beurteilung des therapeutischen Ansprechens als wünschenswert oder notwendig angesehen wird. Es ist wesentlich, dass die Studie groß genug ist, um einen klinisch bedeutenden und statistisch signifikanten Effekt der Behandlung möglichst zuverlässig erkennen zu können. Die statistische Auswertung muss für Größe, Design, Ergebnisparameter und der Dauer der Studie geeignet sein. Die Aussagekraft (Power), einen vorhandenen Unterschied zwischen verschiedenen Behandlungen zu erkennen, ist direkt proportional zur Stichprobengröße und Behandlungsdifferenz und indirekt proportional zum Alpha-Level und zur Variabilität. Ein Schlüsselfaktor ist hier die Bestimmung einer klinisch signifikanten Differenz durch den Studienplaner. Anschließend kann die Anzahl von Patienten bestimmt werden, die zur Erkennung einer Differenz (vorausgesetzt sie existiert tatsächlich) von mindestens dieser Größenordnung erforderlich ist.

Eine randomisierte Zuordnung zur Test- oder Kontrollbehandlung ist in klinischen Studien generell die beste Strategie, um eine Verzerrung aufgrund der Behandlungswahl zu vermeiden. Für die Randomisierung stehen zahlreiche Methoden zur Verfügung. Heute benutzen die meisten Forscher computergenerierte Randomisierungslisten, die nach Studienzentrum und einem vor der Studie vorhandenen Parameter (z. B. Krankheitsstadium) weiter stratifiziert werden

**Tabelle 4.** Datenanalyse: zu analysierende Populationen

1. Intent-To-Treat (ITT): Alle randomisierten Studienteilnehmer.
2. Modifizierte Intent-to-Treat (ITT): Alle randomisierten Teilnehmer, die mindestens eine Dosis des Medikaments erhielten
3. Per Protocol (PP): Alle randomisierten Teilnehmer, welche die Behandlung entsprechend dem Prüfplan abgeschlossen haben

können. Das Randomisierungsschema, mit dem die Zuordnung zu den Behandlungen erfolgt, muss in schriftlicher Form dokumentiert werden. Diese Beschreibung muss ausreichend Details enthalten, damit der Randomisierungsplan reproduziert werden kann, und der Zuordnungsprozess muss eine klare Prozesshistorie liefern.

Die Behandlungszuordnung sollte dem Patienten, dem Arzt und der die Zuordnung vornehmenden Person nicht bekannt sein, bis der Patient offiziell in die Studie aufgenommen und randomisiert worden ist. Patienten und Ärzte sollten bis zum Abschluss der Studie verblindet bleiben. Dies ist am einfachsten möglich, wenn die Zuordnungen von einer Person oder Gruppe außerhalb der Klinik vorgenommen werden. Die Prüfarzte müssen, insbesondere in kleinen Studien, ebenfalls darauf achten, dass eine möglicherweise auftretende Randomisierungs-Verzerrung kontrolliert oder evaluiert werden muss. Die Baseline-Charakteristika der Studiengruppen können auch zufällig variieren. Wenn solche Differenzen eine bestimmte Größe erreichen, können sie den Behandlungsvergleich beeinträchtigen. Die Strategie für die Auswertung klinischer Studiendaten muss im Vorfeld festgelegt werden und muss der/den spezifizierten Outcome-Variablen durch entsprechende Analysemethoden Rechnung tragen.

Die Hauptvoraussetzung bei der Analyse klinischer Studien ist die Einhaltung des „Intention-To-Treat“-Prinzips. Dies bedeutet, dass die Klassifizierung der Studienteilnehmer für die Primäranalyse von Daten in einer klinischen Studie auf der Basis der Behandlung, der sie ursprünglich zugeordnet wurden, erfolgt, unabhängig davon, welche Behandlung sie tatsächlich erhalten oder ob sie das Studienprotokoll eingehalten haben (Tabelle 4). Die Richtlinien der Guten Klinischen Praxis (GCP) schreiben vor, dass ausgewählte Patienten und Visiten vor der Entblindung der Behandlungszuordnung vom klinischen Management (Organisationskomitee) ausgewertet werden müssen. Darüber hinaus muss vorab im Prüfplan und im statistischen Analyseplan angegeben werden, welche Population die primäre ist.

Fehlende Daten können mithilfe statistischer Methoden wie z. B. *Last Observation Carried Forward* (LOCF; letzte Beobachtung wird übertragen) oder Endpunktsubstitution berücksichtigt werden. Idealerweise stimmen die Wirksamkeits- und Sicherheitsergebnisse aller Populationen im Allgemeinen überein. Unterschiede sind jedoch möglich, wenn z. B. Teilnehmer wegen ausbleibender Wirksamkeit oder aufgrund einer Sicherheitsgefährdung ausscheiden. Behandlungs-Cross-Over, schlechte Compliance und Loss-to-Follow-Up stellen die größten Herausforderungen an die Validität klinischer Studien dar. Daher ist die möglichst vollständige Einhaltung des Studienprüfplans und der Nachuntersuchungen das oberste Gebot. Bei Fällen von Loss-To-Follow-Up werden in der Regel eine Reihe von Analysen durchgeführt, denen unterschiedliche Annahmen bezüglich der Ereignishäufigkeit unter Loss-To-Follow-Up-Patienten zugrunde liegen. In ähnlicher Weise können sekundäre Analysen verabreichte Behandlungen und Unterschiede in der Compliance berücksichtigen, sie sind jedoch kein Ersatz für die primäre „Intention-To-Treat“-Analyse.

Grundlegende analytische Methoden für klinische Studien

sind in einer Anzahl biostatistischer Fachbücher und anderer Quellen beschrieben. Eine weit verbreitete Methode der Analyse von Studiendaten ist die Durchführung von Outcome-Analysen auf der Basis von Vergleichen der Patientenanteile, bei denen das untersuchte Outcome eingetreten ist. Diese Analysen sind in der Regel gültig, solange das Ausmaß der Nachuntersuchung in beiden Behandlungsgruppen vergleichbar ist sowie die Loss-To-Follow-Up-Raten niedrig und die Baseline-Charakteristika in den Behandlungsgruppen ähnlich sind.

Die statistische Auswertung der Differenz der Anteile kann mithilfe des Fisher-Exact-Tests oder des Chi-Quadrat-Tests, falls geeignet, erfolgen. Die einfache Analyse des Anteils der Patienten, bei denen das Outcome eingetreten ist, lässt jedoch die Dauer der Nachuntersuchung außer Acht. Dies kann in allen klinischen Studien eine Rolle spielen, in denen Patienten über eine längere Zeitperiode rekrutiert werden und dann bis zu einem vorab festgelegten Datum verfolgt werden, da in diesem Fall die Zeitdauer der Nachbeobachtung variiert. Die Datenanalyse solcher Studien wird gewöhnlich mit Hilfe von Lifetable-Analysenmethoden (Durchgängigkeitsrate) vorgenommen, die eine statistische Methode der Berücksichtigung variabler Nachsorgeperioden erlauben. Die Unterschiede bei den Baseline-Charakteristika können entweder durch Stratifikation oder multivariable Analyse justiert werden. Die Prüfarzte müssen sich dessen bewusst sein, dass die Frage, was die statistische Signifikanz ausmacht, komplex ist. Daher müssen die *P*-Werte mit Vorsicht interpretiert werden, insbesondere weil die meisten Studien Daten zu mehreren Zielkriterien liefern. Diese statistischen Vergleiche können nicht als voneinander unabhängig betrachtet werden. Die Berücksichtigung einer angemessenen Justierung von mehrfachen Vergleichen ist unbedingt erforderlich.

## E. Verwaltung einer klinischen Studie

Organisation und Verwaltung sind entscheidende Erfolgskriterien einer klinischen Studie. Für große, multizentrische Studien ist eine organisatorische Struktur erforderlich. Abbildung 1 zeigt ein exemplarisches Organisationsdiagramm.

Für jeden Schritt bei der Durchführung einer klinischen Studie müssen im Voraus entsprechende Vorbereitungen getroffen und schriftliche Standardverfahren formuliert werden, um ein hohes Fehlerrisiko und das Fehlen von Daten zu vermeiden. Die am Ende dieses Kapitels genannten Anhänge sind über folgende Website aufrufbar: [www.tearfilm.org](http://www.tearfilm.org). Ein Handbuch über die eingesetzten Verfahren sollte vorbereitet werden. Anhang 1 führt eine Liste von Elementen eines geeigneten Handbuchs auf.<sup>6-11</sup>

Zum Zweck der Qualitätssicherung müssen die Standards der Guten Klinischen Praxis (GCP) eingehalten werden. Anhang 2 enthält detaillierte Richtlinien für Sponsoren und Prüfarzte. Dazu zählt die Einhaltung der behördlichen Anforderungen, einschließlich 1) Rolle des Sponsors, 2) Rolle des Prüfarztes, 3) Rolle des klinischen und funktionellen Untersuchungslabors, 4) Ethikkommission oder Kommission zum Schutz von Personen, 5) International Conference on Harmonization und 6) behördliche Richtlinien.<sup>12-30</sup> Die Anfertigung einer Prüfarztbroschüre (Anhang 3) für das zu untersuchende

DEWS KLINISCHE STUDIEN

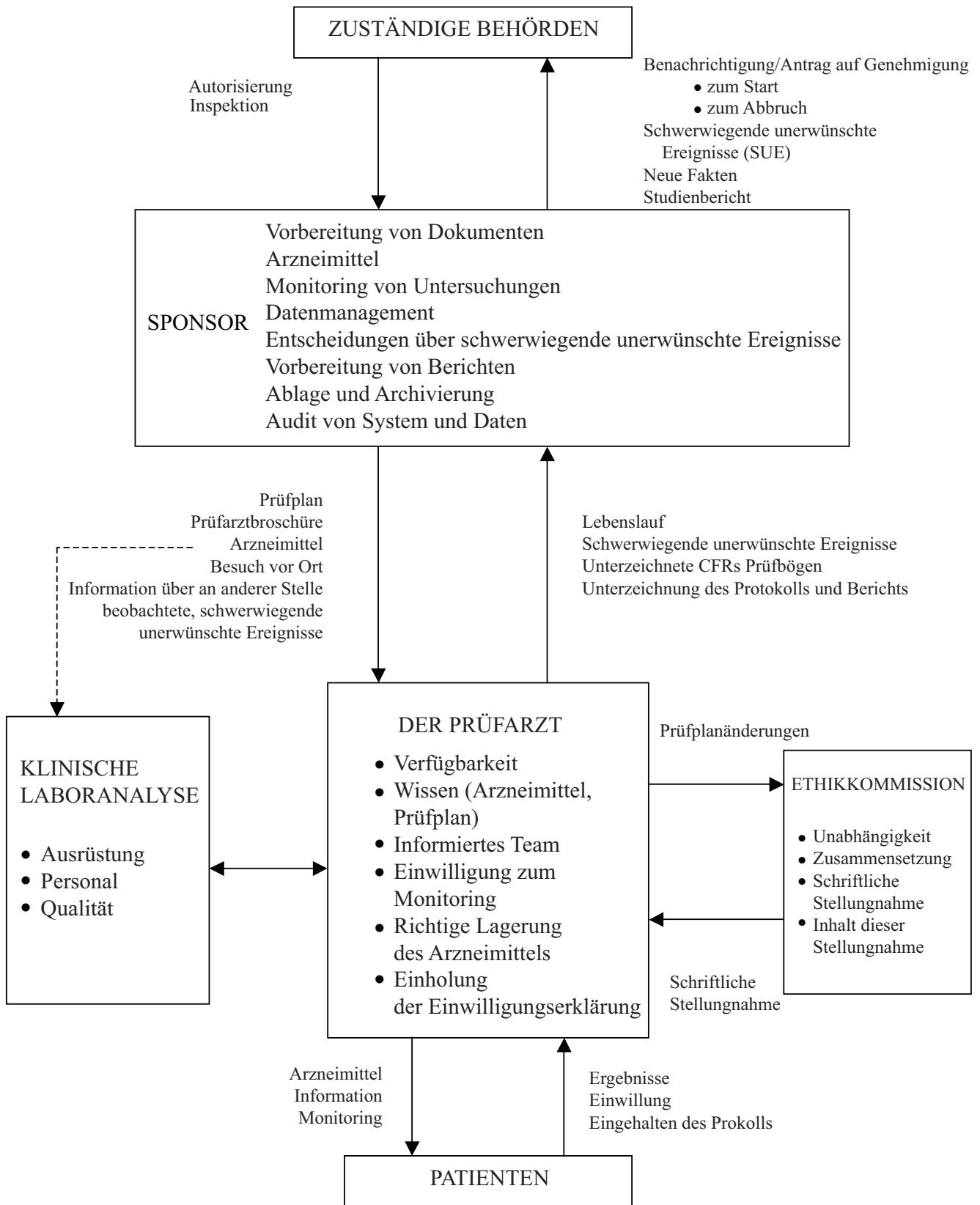


Abbildung 1. Gesamtorganisation einer klinischen Studie. Gedruckt mit Erlaubnis von: Spriet A, Dupin-Spriet T. Clinical trials and quality (Kapitel 1), in Good practice of clinical drug trials. Switzerland, Karger, 2005, ed 3, p 7.

Arzneimittel ist ratsam.<sup>31</sup> Der Einsatzbereich des zu untersuchenden Arzneimittels muss erläutert werden. (Anhang 4).<sup>32-36</sup> Unerwünschte Ereignisse und deren Management müssen festgelegt werden (Anhang 5).<sup>37-43</sup> Die ethische Genehmigung sollte über institutionelle oder designierte Ethikkommissionen, mit denen der Prüfarzt vertraut ist, erfolgen. Die Daten klinischer Studien müssen nach Abschluss von Studie und Datenanalyse verfügbar gemacht werden.<sup>43</sup>

#### **IV. RICHTLINIEN FÜR KLINISCHE STUDIEN DES TROCKENEN AUGES**

Die allgemeinen Überlegungen im Bezug auf klinische Studien des Trockenen Auges umfassen die wichtigsten Konzepte, die allgemein für klinische Studien beschrieben wurden. Klinische Studien des Trockenen Auges können prospektive umweltbezogene Aspekte und prospektive Herausforderungskonzepte einschließen. Ein Protokoll, das auf die hypothetische Wirkungsweise des zu testenden Arzneimittels bzw. der zu testenden Intervention zugeschnitten ist, wäre wünschenswert.

Eine Umweltstudie sollte die oben aufgeführten, allgemeinen Konzeptrichtlinien (prospektiv, randomisiert, doppelblind, placebo-/vehikelkontrolliert) beinhalten. Die Zeitdauer der Studie muss den Nachweis von Wirksamkeit und Sicherheit erlauben.

Einschluss- und Ausschlusskriterien müssen eine potenziell ansprechende Population identifizieren und so ausgewählt werden, dass eine „Regression to the mean“ und eine Beobachtungsverzerrung vermieden werden. Dieser Ansatz sollte Folgendes ausschließen: 1) das Vorhandensein oder das Fehlen jeglicher Erkrankungen der Augenoberfläche, die mit Augentrockenheit einhergehen, aber nicht der Erkrankung entsprechen, für die das zu testende Arzneimittel oder Produkt bestimmt ist; 2) das Vorhandensein oder das Fehlen von systemischen Erkrankungen, die mit Augentrockenheit einhergehen, die nicht der primären, zu trockenem Auge führenden Erkrankung entsprechen; 3) Einnahme systemischer Arzneimittel mit möglichem Einfluss auf den Tränenfilm, die Tränensekretion oder die Augenoberfläche; 4) gleichzeitiger oder früherer Gebrauch topisch applizierter Ophthalmika, durch den die Wirkung des auszuwertenden Arzneimittels bzw. Produkts beeinflusst würde; 5) Vorgeschichte früherer chirurgischer Eingriffe am Auge, einschließlich refraktive Eingriffe, Augenlidtätowierungen, Operationen am Augenlid oder der Kornea; 6) das Vorhandensein oder das Fehlen einer gleichzeitigen Erkrankung der Meibom-Drüsen in Übereinstimmung mit den Studienparametern und 7) das Vorhandensein oder das Fehlen von Kontaktlinsen. Patienten, die sich einer stabilen Gleitmitteltherapie unterziehen, die nicht in den Wirkmechanismus des zu testenden Arzneimittels oder der Intervention eingreift, können möglicherweise in die Studie aufgenommen werden, während sie ihre Hintergrundtherapie weiterhin und ohne Unterbrechung fortführen. Dabei wäre jedoch eine Überwachung der Hintergrundtherapie erforderlich.

Die Stichprobe muss so groß sein, dass eine gültige statistische Analyse und, falls erforderlich, statistische Vergleiche der Untergruppen möglich sind. Die daraus resultierende statistische Aussagekraft (Power) muss die

Schlussfolgerungen der Studie unterstützen. Wenn die Schlussfolgerungen der Studie die Gleichwertigkeit der beiden Behandlungsgruppen ergeben, ist es von Bedeutung, die Aussagekraft der Studie, mit der ein klinisch signifikanter Unterschied erkennbar wird, zu bedenken. Typischerweise ist eine minimale Aussagekraft von 80 % (Beta) erforderlich. Die Ausmaße der Krankheitsschwere müssen erkannt und gleichmäßig verteilt werden, damit die Studienergebnisse nicht zu einem möglichen positiven oder negativen therapeutischen Ansprechen hin verzerrt werden. Die Fähigkeit der Studienteilnehmer, die Studienbedingungen einzuhalten und die Studie abzuschließen, ist zu bestätigen.

Ein Controlled-Adverse-Environment (CAE)-Design kann im Verlauf der klinischen Studie zur Kontrolle der Umgebung, der Aktivitäten des Teilnehmers oder einer Kombination beider eingesetzt werden. Dadurch wird eine belastende Umgebung geschaffen, in der sich klinische Symptome und Anzeichen eines trockenen Auges verschlimmern.<sup>44</sup> Ein solcher Belastungstest ist besonders dann von Nutzen, wenn ein pharmakologischer Effekt in einer kurzen Zeitperiode erzielt werden muss. Umweltvariablen, die überwacht und manipuliert werden können, sind Feuchtigkeit, Temperatur und Luftstrom. Aktivitäten können z. B. visuelle Aufgaben einschließen, und die Blinzelrate und Tränenfilmstabilität kann überwacht werden. Das Studiendesign sollte die Eigenschaften einer prospektiven, randomisierten, (möglichst weitgehend) verblindeten und kontrollierten Studie umfassen. Die Erkennung einer möglichen Anpassung des Patienten an die Bedingungen der Umweltherausforderungen erfordert eine korrektive Anpassung der Datenanalysen.<sup>45,46</sup> Wird eine Patientenpopulation auf der Basis ihrer natürlichen Reaktion auf die Umweltherausforderungen ausgewählt, kann dies zur Folge haben, dass die Verallgemeinerbarkeit der Schlussfolgerungen der Studie auf die gesamte Population mit Trockenem Auge reduziert wird.

#### **V. BEOBACHTUNGEN AUS FRÜHEREN KLINISCHEN STUDIEN DES TROCKENEN AUGES**

##### **A. Besonderheiten klinischer Studien des Trockenen Auges**

Es wurde festgestellt, dass die Symptome und Anzeichen in einigen Studien sehr eng miteinander verbunden sind, in anderen Studien jedoch nicht. In den meisten Arzneimittelstudien zeigten sich Unterschiede zwischen Symptomen und Anzeichen.<sup>47-76</sup> Die meisten klinischen Studien zur Auswertung einer topischen Behandlung des Trockenen Auges zeigen eine offensichtliche und markante Placebo- oder Vehikelreaktion.<sup>1</sup> Obwohl in zahlreichen Studien, in denen Symptome ausgewertet wurden, Placeboeffekte beobachtet wurden, erfolgt in klinischen Studien des Trockenen Auges ebenfalls eine beachtliche Placeboantwort auf objektive Parameter. Für diese klare Placeboantwort gibt es keine plausible Erklärung, sie ließe sich zum Teil jedoch durch „Regression to the mean“ erklären. Die meisten früheren klinischen Studien definieren als Eintrittskriterien einen minimalen Schweregrad der Outcome-Parameter. Obwohl durch dieses Vorgehen ein Schweregrad gewährleistet ist, der die Darstellung einer messbaren Wirkung erlaubt, wird dabei gleichzeitig das Auftreten einer „Regression to the mean“

wahrscheinlicher.

Der feuchtigkeitsspendende und Gleitmitteleffekt einer jeden topisch applizierten Kontrolle kann bei Manifestationen des Trockenen Auges ebenfalls eine Verbesserung gegenüber der Baseline erzielen. Es ist erwiesen, dass die Teilnahme an einer klinischen Studie allein zur Verbesserung der Compliance führt.<sup>3,5</sup> Die nach randomisierter Zuordnung zu einer Behandlung in den Kontrollgruppen sowie in den aktiven Studiengruppen beobachtete Verbesserung reflektiert möglicherweise die Erwartungen sowohl der Teilnehmer wie auch der Beobachter sowie deren Wunsch nach einem günstigen Effekt einer beliebigen vorgeschlagenen Therapie. Dieses Phänomen wurde als „Randomisierungserwartung“ bezeichnet und kann Auswirkungen auf das Ansprechen bei jeder der zugeordneten Behandlungen haben.

## B. Auswertung und Outcome-Parameter

Eine Literaturrecherche ergab, dass Schirmer-Test, Tear-Film-Breakup-Time (TFBUT; Tränenfilm-Aufrisszeit), Vitalfärbungswerte und Symptome von Unbehagen die häufigsten Endpunkte in klinischen Studien des Trockenen Auges sind. In unterschiedlichen Studien wurde auch ein breites Spektrum von Markern benutzt, je nachdem ob das untersuchte Medikament der Klasse der Tränensatzmittel, der entzündungshemmenden Arzneimittel oder der Sekretagoga angehört. Bei dieser Recherche fiel auf, dass die Dauer der Studien relativ kurz war und bei Studien mit Tränensatzmitteln zwischen 6-8 Wochen lag, während Studien mit entzündungshemmenden Arzneimitteln oder Sekretagoga über einen längeren Zeitraum durchgeführt wurden (8-12 Wochen, wobei sich die Verlaufsbeobachtung über 3-12 Wochen erstreckte).

In Studien mit entzündungshemmenden Wirkstoffen wurden neben den oben genannten Endpunkten auch Tests, Biomarker und Endpunkte benutzt, u. a. die Impressionszytologie einschlossen (Anzahl der Becherzellen, epitheliale Morphologie, Expression von HLA DR, CD3,4,8, 40, Apo2,7 und Zytokinprofile). Studien mit Sekretagoga bewerteten ebenfalls die Osmolarität und die Expression von MUC 1, 2, 4 und 5AC mRNA. Neben den oben erwähnten gemeinsamen Endpunkten berücksichtigten Studien mit Instrumenten, die eine Tränenretention verursachen, wie z. B. Schwimmbrillen und Punctum Plugs, die Tränen Clearance, die Osmolarität der Tränenflüssigkeit, den Tränenfunktionsindex (TFI) sowie die Standardisierung der umgebenden Luftfeuchtigkeit und Temperatur. Diese Parameter wurden für die Auswertung von Therapien mit folgenden Wirkstoffen angewendet: 1) Tränensatz<sup>47-52</sup>; 2) entzündungshemmende Wirkstoffe, einschließlich Kortikosteroide<sup>53,54</sup> und Cyclosporine<sup>55-61</sup>; 3) autologes Serum<sup>62-66</sup>; Sekretagoga, einschließlich derer, die Tränenflüssigkeit und<sup>67-72</sup> Mucin-Produktion<sup>73-78</sup> stimulieren; 4) Instrumente<sup>79-86</sup>; und diverse andere Therapien.<sup>87-88</sup>

## C. Empfohlene Attribute von Studien des Trockenen Auges

Einschlusskriterien für klinische Studien des trockenen Auges sollten, basierend auf dem Wirkmechanismus der vorgeschlagenen Behandlung/Intervention, eine potenziell

auf die Behandlung ansprechende Population definieren, bei der die Behandlung oder Intervention aller Wahrscheinlichkeit nach Wirksamkeit zeigt. Mithilfe der Einschluss- und Ausschlusskriterien ist eine spezifische Population auszuwählen, mit der Störvariablen und „Regression to the mean“ vermieden oder minimiert werden. Ausschlusskriterien werden im Detail oben in Abschnitt IV beschrieben.

Ein Prüfplan, der auf den Wirkmechanismus des zu untersuchenden Arzneimittels oder der Intervention zugeschnitten ist, wäre am besten geeignet. Outcome-Variablen sind so auszuwählen, dass sie mit dem Wirkmechanismus des zu untersuchenden Arzneimittels oder der Intervention im Einklang stehen. Das Subkomitee rät für zukünftige Studien dringend zum Einsatz von Biomarkern und/oder Surrogatmarkern des Krankheitsstatus, entsprechend dem technologischen Fortschritt. Dabei erkennt das Komitee aber auch, dass die Validierung derartiger Surrogatmarker erforderlich sein wird. Eine erhöhte Osmolarität der Tränenflüssigkeit ist zum Beispiel ein bewährter Marker für trockenes Auge. Dabei sind zur Messung mehrere Methoden möglich.

Surrogatmarker können direkt oder korrelativ sein. Direkte Surrogatmarker werden von denselben physikalischen oder chemischen Eigenschaften wie der Primärmarker abgeleitet, z. B. Leitfähigkeit der Tränenflüssigkeit als Maß ihrer Osmolarität. Korrelative Surrogatmarker korrelieren mit dem Primärmarker, können jedoch auch von anderen Mechanismen generiert werden, z. B. ein einzelnes inflammatorisches Zytokin als Marker einer Entzündung.

Beim Trockenen Auge, bei dem die Variabilität eines Anzeichens oder Symptoms zu jedem beliebigen Zeitpunkt durch Umweltfaktoren oder visuelle Aktivitäten beeinflusst werden kann, ist die Messung verlässlicher, beständiger Surrogatmarker der Krankheit als gültiges Maß für die Wirksamkeit einer beliebigen Therapie/Intervention zu betrachten. Die Outcome-Parameter müssen mit ausreichender Genauigkeit und Reproduzierbarkeit messbar sein. Die Messung des primären Outcome-Parameters sollte mit einem gut validierten Test vorgenommen werden. Dies gilt sowohl für klinische Krankheitszeichen und Surrogatkriterien wie auch für Symptome wie Beschwerden über Unwohlsein und Sehstörungen.<sup>89-96</sup> Die primäre Outcome-Variable kann Symptom oder Anzeichen für eine gültige Outcome-Analyse sein, doch zur behördlichen Genehmigung könnte in einigen Ländern beides erforderlich sein. Symptome sind anhand eines gut definierten Bewertungssystems wie der Visual Analog Scale (VAS; visuelle Analogskala) oder der Likert-Skala zu bewerten.<sup>2,97</sup>

Im Hinblick darauf, dass das Ansprechen auf Placebo und Vehikel bei klinischen Studien des trockenen Auges eine wichtige Rolle spielt, stellte das Subkomitee verschiedene Betrachtungen an. Da kein echtes Placebo existiert, das keinen eigenen Gleitmitteleffekt hat, könnte man einen Behandlungsarm mit einer untherapierten Kontrollgruppe in Betracht ziehen. Obwohl ein solches Design durch mögliche Auflagen des Institutional Review Boards (Ethikkommission) eingeschränkt werden könnte, und Patienten dazu neigen, gelegentlich frei verkäufliche Gleitmittel zu benutzen, die das Ergebnis verfälschen können, hat die Erwägung

eines solchen Designs Vorzüge. Bei Fehlen eines solchen Prüfplans empfiehlt das Subkomitee die Erwägung 1) einer randomisierten, verblindeten Studie, in der auch eine Verblindung der Therapieeinleitung sowohl dem Prüfarzt wie auch dem Studienteilnehmer gegenüber stattfindet oder 2) eine Entzugsstudie, in der alle Teilnehmer anfänglich das aktive Arzneimittel erhalten und danach eine Randomisierung auf ein Vehikel vorgenommen wird. Ein Vorteil eines solchen Designs liegt darin, dass alle Teilnehmer zu irgendeinem Zeitpunkt in der Studie das aktive Arzneimittel erhalten. Dadurch könnte sich die Bereitschaft der Probanden, an einer gut gestalteten Studie teilzunehmen, erhöhen.

Das Subkomitee empfiehlt den Einschluss folgender Outcome-Parameter:

1. Ein objektives Maß der Sehfunktion (z. B. die funktionelle Sehschärfe);
2. Bestimmung von Volumen und Produktion der Tränenflüssigkeit (z. B. Schirmer-Test oder Fluoreszeinverdünnungstest);
3. Bestimmung der Stabilität der Tränenflüssigkeit (z. B. Aufrisszeit mit Fluoreszein TFBUT oder einem nicht-invasiven TFBUT-Instrument wie z. B. bei der Videokeratographie)<sup>96</sup>;
4. Bestimmung der Zusammensetzung der Tränenflüssigkeit (z. B. Osmolarität, Bestimmung der Konzentration eines bestimmten Proteins oder Bestimmung inflammatorischer Mediatoren in der Tränenflüssigkeit);
5. Beurteilung der Integrität der Augenoberfläche.

Es besteht ein Konsens darüber, dass die Färbung der Augenoberfläche mit Fluoreszein und Lissamin oder mit Bengalrosa die derzeit beste Methode der Bestimmung der Augenoberflächenintegrität darstellt (siehe Parameter des vom Diagnostic Methodology Subcommittee verfassten Berichts in dieser Ausgabe für die geeigneten Konzentrationen und den Gebrauch von Barrierefiltern),<sup>98</sup> obwohl in früheren klinischen Studien die Grenzen dieses Verfahrens beschrieben wurden.<sup>58,69,76</sup> Ein standardisiertes Bewertungssystem muss die Färbung von Kornea und Konjunktiva getrennt erfassen und für die Analyse sowohl individuelle wie auch kombinierte Flächenwerte dokumentieren (für geeignete Bewertungssysteme siehe Bericht des Diagnostic Methodology Subcommittee).<sup>98</sup> Das Bewertungssystem muss ein oder zwei Punktfärbungen im inferonasalen Quadranten der Kornea zulassen, da diese Färbung auch bei normalen Personen auftreten kann.<sup>99-107</sup> Die Färbung des konjunktivalen Karunkels und der halbmondförmigen Falte dürfen nicht in die Auswertung eingehen, da diese bei der Mehrheit normaler Personen auftritt.<sup>101</sup>

Andere Tests, die möglicherweise als Ergebnisparameter in spezifischen Prüfplänen in Frage kommen, könnten z. B. die Impressionszytologie und Durchflusszytometrie einschließen (für ausgewählte Studien siehe Parameter im Bericht des Diagnostic Methodology Subcommittee für jeweils anzuwendende Verfahren und Färbungsmethoden).<sup>98</sup> Es ist vorzusehen, dass technologische Fortschritte auf dem Gebiet der Messungen von Tränenfilmstabilität, Tränenmeniskusvolumen oder Augenoberflächenschutz und Epithelpermeabilität in Zukunft eine genauere Bestimmung der Tränenfunktion und Augenoberflächenintegrität erlauben

werden. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt wurden diese aber in klinischen Studien noch nicht ausreichend validiert.

Eine Outcome-Analyse bei einer multifaktoriellen Erkrankung mit verschiedenen klinischen Parametern einer Tränenfilmanomalie, Augenoberflächenschädigung und funktioneller Behinderung kann eventuell von gemischten Indizes der Krankheitsschwere profitieren. Diese Vorgehensweise wurde bei der Evaluierung von rheumatischen Erkrankungen verwendet. Hieraus entstand eine Konsensuserklärung mit den Indizes ACR50 und ACR70 des American Congress of Rheumatology (ACR) zur Evaluierung mehrfacher Deskriptoren der Krankheitsschwere. Bislang wurden gemischte Indizes für das Trockene Auge noch nicht ausreichend evaluiert, und validierte Indizes liegen nicht vor. Das Komitee erkennt die Entwicklung und Validierung solcher Indizes zur Bewertung des Trockenen Auges als eine Anforderung und als Thema für zukünftige Treffen.

Eine geeignete und sorgfältig geplante statistische Analyse ist bei der Auswertung klinischer Studien von entscheidender Bedeutung. Die Strategie für die Analyse hängt von der für die Studie gewählten primären Outcome-Variablen ab. Diese muss vor Beginn der Datenerfassung festgelegt werden. Für die primäre Datenanalyse muss das allgemeine Prinzip der „Intent-To-Treat“-Analyse befolgt werden.

## VI. MERKMALE ZUR ERLEICHTERUNG MULTIZENTRISCHER UND INTERNATIONALER KOLLABORATIVER KLINISCHER STUDIEN

Das Subkomitee empfiehlt die Entwicklung von Kriterien mit multinationaler Geltung. Ein wichtiger Aspekt für derartige internationale Studien ist der Gebrauch einer einheitlichen Terminologie. Dies kann bedeuten, dass Begriffe zum Zweck der Klarheit und Genauigkeit eventuell übersetzt und dann rückübersetzt werden müssen. Es ist dabei notwendig, in der Terminologie kulturelle oder ethnische Konnotationen und Implikationen zu beseitigen. Die Interpretation von Outcome-Variablen muss einheitlich sein und von standardisierten Prüfplänen zur Bestimmung und Dokumentation der Daten begleitet werden. Die Testverfahren müssen einheitlich sein, d. h. es werden standardisierte Reagenzien und Prüfpläne benutzt, und die Ergebnisse stets protokolliert. Es ist darauf zu achten, dass der Wissensstand der Datenerfasser und Beobachter aktuell bleibt, was auch die Zertifizierung der Prüfarzte, Forschungskoordinatoren und technischen Mitarbeiter beinhaltet. Verzerrungen aufgrund von unterschiedlichen Populationsmerkmalen (Rasse, Ethnizität, Klima) sind nach Möglichkeit zu reduzieren.

Diese Anhänge sind auf der Website [www.tearfilm.org](http://www.tearfilm.org) aufrufbar:

- Anhang 1. *Entwurf eines Verfahrenshandbuchs*
- Anhang 2. *Richtlinien für Gute Klinische Praxis (GCP)*
- Anhang 3. *Erstellung der Prüfarztbroschüre für die untersuchten Arzneimittel*
- Anhang 4. *Verwendung des zu untersuchenden Arzneimittels*
- Anhang 5. *Unerwünschte Ereignisse und Managementprobleme*

## LITERATUR

(Parenthetical codes following some references indicate level of evidence according to the American Academy of Ophthalmology Preferred Practices guidelines.)



1. Foulks GN. Challenges and pitfalls in clinical trials of treatments for dry eye. *Ocul Surf* 2003;1:21-36
2. Chow SC, Liu J-P. Design and analysis of clinical trials: concept and methodologies. John C Wiley and Co, New York, 1998. pp5,6,180
3. Hrobjartsson A, Gotzsche PC. Is the placebo powerless? An analysis of clinical trials comparing placebo with no treatment. *N Engl J Med* 2001;345:1277-8
4. Wehrauch TR, Gauler TC. Placebo—efficacy and adverse effects in controlled clinical trials. *Arzneimittel-Forschung* 1999;49:385-93
5. Shapiro AK, Shapiro E. The powerful placebo. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1997, p149
6. Belorgey C, Demarez JP, Jaillon P, Giens XVII. Good clinical practice in clinical trials: training physicians, incentives to apply good clinical practice and assessment of compliance. *Therapie* 2002;57:339-46
7. Bohaychuk W, Ball G. *Conducting GDP-compliant clinical research*. Chichester, John Wiley and Sons: 1999
8. Bohaychuk W, Ball G. Standard operating procedures for clinical research personnel. *Quality Assurance J* Part 1, 1998;3:137-50. Part 2, 2000;4:31-46. Part 3, 2000;4:95-106. Part 4, 2000;4:151-68. Part 5, 2000;4:211-23. Part 6, 2001;5:37-47. Part 7, 2001;5:91-112. Part 8, 2001;5:163-73. Part 9, 2001;5:221-40. Part 10, 2002;6:23-32. Part 11, 2002;6:33-43. Part 12, 2002;6:103-11. Part 13, 2002;6:187-95. Part 14, 2002;6:235-44. Part 15, 2003;7:41-9. Part 16, 2003;7:100-12
9. Gerlis L. Sample standard operating procedures for good clinical practice. Richmond, PJB Publications, 1988
10. Spiet A, Dupin-Spriet T. Evaluation des thérapeutiques, in Herve P, Rifle G, Vuitton DA, et al (eds). *Transplantation d'organes et greffes de tissus*. Paris, INSERM, John Libbey, 1994;77-97
11. Spriet A, Dupin-Spriet T, Simon P. *Methodology of clinical drug trials*. Basel, Karger, 1994
12. DeAngelis C, Fontanarosa PB, Flanagan A. Reporting financial conflicts of interest and relationships between investigators and research sponsors. *JAMA* 2001;286:89-91
13. Decoster G, Wahl M. Insuring subjects in clinical trials: sponsors need to work through a regulatory maze. *Appl Clin Trials* 1998 ;7 :30-6
14. Dupin-Spriet T, Spriet A. Des essais cliniques pour un dossier international. Quelles difficultés? *STP Pharma Pratiques* 1993;3:1-5
15. European Parliament and Council of the European Union. Directive 2001/20/EC of the European Parliament and of the Council of April 2001 on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the Member States relating to the implementation of good clinical practice in the conduct of clinical trials on medicinal products for human use. *Official Journal of the European Communities* 1.5.2001;L121/34-44/34-44.
16. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Explanatory note and comments to the ICH harmonized tripartite guideline E6: Note for Guidance on Good Clinical Practice (CPMP/ICH/135/95, CPMP/768/97. 8 September 1997
17. European Commission Enterprise Directorate-General. The rules governing medicinal products in the European Union. Volume 4, Good Manufacturing Practices, Annex 13, Manufacture of investigational medicinal products. July 2003
18. Horton R. Conflicts of interest in clinical research: opprobrium or obsession? *Lancet* 1997;349:1112-3
19. Hvidberg EF. Achieving investigator compliance. *Drug Information J* 1993;27:1107-10
20. Imada S. An update on good clinical practice legislation in Japan. *Quality Assurance J* 1998;3:37-42
21. Inoue K, Hasebe S. The quality assurance and quality control issue for sponsors on GCP compliance in Japan. *Quality Assurance J* 1999;3:65-9
22. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH topic E3. Structure and content of clinical study report. November 1995
23. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH topic E6. Note for guidance on good clinical practice. July 1996
24. International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. ICH topic E9. Statistical principles for clinical trials. February 1998
25. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH topic S4A. Note for guidance on duration of chronic toxicity in animals (rodent and non rodent toxicity testing). November 1998
26. European Agency for Evaluation of Medicinal Products. ICH topic M3(M). Note for guidance on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals. November 2000
27. Lacombe D. Insuring international clinical trials. An academic viewpoint. *Appl Clin Trials* 1998;7:24-9
28. Moses H, Martin JB. Academic relationships with industry. A model for biomedical research. *JAMA* 2001;285:933-5
29. US Code of Federal Regulations. Title 21: Food and Drugs. Part 50: Protection of human subjects. Part 56: Institutional review boards. Part 312: Investigational new drug application. April 2003
30. US Food and Drug Administration. Guidance for industry. Financial disclosure by clinical investigators. March 20, 2001
31. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH topic E6. Good clinical practice consolidated guideline. Section 7: Investigator's brochure. July 1996
32. Dupin-Spriet T, Spriet A. Les bonnes pratiques de fabrication des médicaments pour essai clinique, in *Medicament, Ethique et Realite Industrielle*. La réglementation pharmaceutique—Principes et philosophie. Paris, Editions de Sante 1996
33. International Air Transport Association. IATA dangerous goods regulations 44th edition, 2003
34. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH topic Q1A (R2). Stability testing of new drug substances and products. August 2003
35. Lantz RJ Jr. Stability aspects of clinical supplies and scale-up studies. *Drug Development Industrial Pharmacy* 1984;10:1425-32
36. US Food and Drug Administration. Center for Drugs and Biologics. Office of Drug. Department of Health and Human Services. Guideline for submitting documentation for the stability of human drugs and biologics. Rockville, Food and Drug Administration, 1987
37. Begaud B, Evreux JC, Jouglard J, Lagier G. [Imputation of the unexpected or toxic effects of drugs. Actualization of the method used in France]. *Therapie* 1985;40:111-8
38. European Commission Enterprise Directorate-General. Detailed guidance on the European database of suspected unexpected serious adverse reactions (Eudravigilance—clinical trial module). April 2003
39. European Commission Enterprise Directorate-General. Detailed guidance for the request for authorization of a clinical trial on a medicinal product for human use to the competent authorities, notification of substantial amendments and declaration of the end of the trial. April 2003
40. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH topic E2A. Clinical safety data management: definitions and standards for expedited reporting: availability, notice. November 1994
41. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH topic E2B (M). Maintenance of the ICH guideline on clinical safety data management: data elements for transmission of individual case safety reports. February 2001.
42. Karch FE, Lasagna L. Toward the operational identification of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol Ther* 1977;21:247-54
43. US Code of federal regulations title 21, volume 5. Part 312 Investigational New Drug application. Subpart B Section 312.32 IND safety reports.
44. Ousler G, Gomes PJ, Welch D, Abelson MB. Methodologies for the study of ocular surface disease. *Ocul Surf* 2005;3:143-54
45. Ousler GW 3rd, Abelson MB, Nally LA, et al: Evaluation of time to 'natural compensation' in normal and dry eye subject populations during exposure to a controlled adverse environment. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(Pt B):1057-63
46. Abelson MB, Ousler GW3rd, Nally LA, et al: Alternative reference values for tear film break up time in normal and dry eye populations. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(Pt B):1121-5
47. Lopez Bernal D, Ubels JL. Quantitative evaluation of the corneal epithelial barrier: effect of artificial tears and preservatives. *Curr Eye Res* 1991;10:645-56 (LAI)
48. Lopez Bernal D, Ubels JL. Artificial tear composition and promotion of recovery of the damaged corneal epithelium. *Cornea* 1993;12:115-20 (LAI)
49. Gilbard JP, Farris RL. Tear osmolarity and ocular surface disease in keratoconjunctivitis sicca. *Arch Ophthalmol* 1979;97:1642-6 (LAI)
50. Christensen MT, Cohen S, Rinehart J, et al. Clinical evaluation of an HP-guar gellable lubricant eye drop for the relief of dryness of the eye. *Curr Eye Res* 2004;28:55-62 (LAI)
51. Sand BB, Marner K, Norm MS. Sodium hyaluronate in the treatment of keratoconjunctivitis sicca. A double masked clinical trial. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1989;67:181-3 (LAI)
52. Nelson JD, Farris RL. Sodium hyaluronate and polyvinyl alcohol artificial tear preparations. A comparison in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Arch Ophthalmol* 1988;106:484-7 (LAI)

53. Pflugfelder SC, Maskin SL, Anderson B, et al. A randomized, double-masked, placebo-controlled, multicenter comparison of loteprednol etabonate ophthalmic suspension, 0.5%, and placebo for treatment of keratoconjunctivitis sicca in patients with delayed tear clearance. *Am J Ophthalmol* 2004;138:444-57 (LA1)
54. Avunduk AM, Avunduk MC, Varnell ED, Kaufman HE. The comparison of efficacies of topical corticosteroids and nonsteroidal anti-inflammatory drops on dry eye patients: a clinical and immunocytochemical study. *Am J Ophthalmol* 2003;136:593-602 (LA1)
55. Gunduz K, Ozdemir O. Topical cyclosporin treatment of keratoconjunctivitis sicca in secondary Sjogren's syndrome. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1994;72:438-42 (LA1)
56. Laibovitz RA, Solch S, Andriano K, et al. Pilot trial of cyclosporine 1% ophthalmic ointment in the treatment of keratoconjunctivitis sicca. *Cornea* 1993;12:315-23 (LA1)
57. Stevenson D, Tauber J, Reis BL. Efficacy and safety of cyclosporin A ophthalmic emulsion in the treatment of moderate-to-severe dry eye disease: a dose-ranging, randomized trial. The Cyclosporin A Phase 2 Study Group. *Ophthalmology* 2000;107:967-74 (LA1)
58. Sall K, Stevenson OD, Mundorf TK, Reis BL. Two multicenter, randomized studies of the efficacy and safety of cyclosporine ophthalmic emulsion in moderate to severe dry eye disease. CsA Phase 3 Study Group. *Ophthalmology* 2000;107:631-9 (LA1)
59. Kunert KS, Tisdale AS, Gipson IK. Goblet cell numbers and epithelial proliferation in the conjunctiva of patients with dry eye syndrome treated with cyclosporine. *Arch Ophthalmol* 2002;120:330-7 (LA1)
60. Brignole F, Pisella PJ, De Saint Jean M, et al. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in KCS: 6-month treatment with topical cyclosporin A. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:90-5 (LA1)
61. Kunert KS, Tisdale AS, Stern ME, et al. Analysis of topical cyclosporine treatment of patients with dry eye syndrome: effect on conjunctival lymphocytes. *Arch Ophthalmol* 2000;118:1489-96 (LA1)
62. Poon AC, Geerling G, Dart JK, et al. Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: clinical and in vitro toxicity studies. *Br J Ophthalmol* 2001;85:1188-97 (LB2)
63. Tananuvat N, Daniell M, Sullivan LJ, et al. Controlled study of the use of autologous serum in dry eye patients. *Cornea* 2001;20:802-6 (LA2)
64. Kojima T, Ishida R, Dogru M, et al. The effect of autologous serum eyedrops in the treatment of severe dry eye disease: a prospective randomized case-control study. *Am J Ophthalmol* 2005;139:242-6 (LA1)
65. Noble BA, Loh RS, MacLennan S, et al. Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomised controlled crossover trial for ocular surface disease. *Br J Ophthalmol* 2004;88:647-52 (LA1)
66. Tsubota K, Goto E, Fujita H, et al. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjogren's syndrome. *Br J Ophthalmol* 1999;83:390-5 (LB2)
67. Gilbard JP, Rossi SR, Heyda KG, Dart DA. Stimulation of tear secretion by topical agents that increase cyclic nucleotide levels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990;31:1381-8 (LA1)
68. Gilbard JP, Rossi SR, Heyda KG, Dart DA. Stimulation of tear secretion and treatment of dry-eye disease with 3-isobutyl-1-methylxanthine. *Arch Ophthalmol* 1991;109:672-6 (LA1)
69. Tauber J, Davitt WF, Bokosky JE, et al. Double-masked, placebo-controlled safety and efficacy trial of diquafosol tetrasodium (INS365) ophthalmic solution for the treatment of dry eye. *Cornea* 2004;23:784-92 (LA1)
70. Mundasad MV, Novack GD, Allgood VE, et al. Ocular safety of INS365 ophthalmic solution: a P2Y(2) agonist in healthy subjects. *J Ocul Pharmacol Ther* 2001;17:173-9
71. Yerxa BR, Mundasad M, Sylvester RN, et al. Ocular safety of INS365 ophthalmic solution, a P2Y2 agonist, in patients with mild to moderate dry eye disease. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(Pt B):1251-7 (LB2)
72. Fujihara T, Murakami T, Fujita H, et al. Improvement of corneal barrier function by the P2Y(2) agonist INS365 in a rat dry eye model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:96-100
73. Fujihara T, Murakami T, Nagano T, et al. INS365 suppresses loss of corneal epithelial integrity by secretion of mucin-like glycoprotein in a rabbit short-term dry eye model. *J Ocul Pharmacol Ther* 2002;18:363-70
74. Yerxa BR, Douglass JG, Elena PP, et al. Potency and duration of action of synthetic P2Y2 receptor agonists on Schirmer scores in rabbits. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(Pt A):261-5
75. Nakamura M, Endo K, Nakata K, Hamano T. Gefarnate stimulates secretion of mucin-like glycoproteins by corneal epithelium in vitro and protects corneal epithelium from desiccation in vivo. *Exp Eye Res* 1997;65:569-74 (LA1)
76. Hamano T. Dry eye treatment with eye drops that stimulate mucin production. *Adv Exp Med Biol* 1998;438:965-8 (LA2)
77. Jumblatt JE, Cunningham LT, Li Y, Jumblatt MM. Characterization of human ocular mucin secretion mediated by 15(S)-HETE. *Cornea* 2002;21:818-24 (LA1)
78. Jackson RS 2nd, Van Dyken SJ, McCartney MD, Ubels JL. The eicosanoid, 15-(S)-HETE, stimulates secretion of mucin-like glycoprotein by the corneal epithelium. *Cornea* 2001;20:516-21 (LA1)
79. Tuberville AW, Frederick WR, Wood TO. Punctal occlusion in tear deficiency syndromes. *Ophthalmology* 1982;89:1170-2 (LA1)
80. Willis RM, Folberg R, Krachmer JH, Holland EJ. The treatment of aqueous-deficient dry eye with removable punctal plugs. A clinical and impression-cytologic study. *Ophthalmology* 1987;94:514-8 (LA1)
81. Yen MT, Pflugfelder SC, Feuer WJ. The effect of punctal occlusion on tear production, tear clearance, and ocular surface sensation in normal subjects. *Am J Ophthalmol* 2001;131:314-23 (LA1)
82. Balaram M, Schaumberg DA, Dana MR. Efficacy and tolerability outcomes after punctal occlusion with silicone plugs in dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol* 2001;131:30-6 (LA1)
83. Tsubota K, Yamada M, Urayama K. Spectacle side panels and moist inserts for the treatment of dry-eye patients. *Cornea* 1994;13:197-201 (LA2)
84. Tsubota K. The effect of wearing spectacles on the humidity of the eye. *Am J Ophthalmol* 1989;108:92-3 (LA2)
85. Gresset J, Simonet P, Gordon D. Combination of a side shield with an ocular moisture chamber. *Am J Optom Physiol Opt* 1984;61:610-2 (LA2)
86. Korb DR, Greiner JV, Glonek T, et al. Effect of periocular humidity on the tear film lipid layer. *Cornea* 1996;15:129-34 (LA2)
87. Sommer A. Treatment of corneal xerophthalmia with topical retinoic acid. *Am J Ophthalmol* 1983;95:349-52 (LA1)
88. Nelson JD, Gordon JF. Topical fibronectin in the treatment of keratoconjunctivitis sicca. Chiron Keratoconjunctivitis Sicca Study Group. *Am J Ophthalmol* 1992;114:441-7 (LA1)
89. Begley CG, Chalmers RL, Abetz L, et al. The relationship between habitual patient-reported symptoms and clinical signs among patients with dry eye of varying severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:4753-61 (LA1)
90. Begley CG, Caffery B, Chalmers RL, Mitchell GL. Dry Eye Investigation (DREI) Study Group. Use of the dry eye questionnaire to measure symptoms of ocular irritation in patients with aqueous tear deficient dry eye. *Cornea* 2002;21:664-70 (LA1)
91. Nichols KK, Begley CG, Caffery B, Jones LA. Symptoms of ocular irritation in patients diagnosed with dry eye. *Optom Vis Sci* 1999;76:838-44 (LA1)
92. Schein OD, Tielsch JM, Munoz B, et al. Relation between signs and symptoms of dry eye in the elderly. A population-based perspective. *Ophthalmology* 1997;104:1395-401 (LA1)
93. Bjerrum KB. Test and symptoms in keratoconjunctivitis sicca and their correlation. *Acta Ophthalmol Scand* 1996;74:436-41 (LA1)
94. Bowman SJ, Booth DA, Platts RG, et al; UK Sjogren's Interest Group. Validation of the Sicca Symptoms Inventory for clinical studies of Sjogren's syndrome. *J Rheumatol* 2003;30:1259-66 (LA1)
95. Nichols KK. Patient-reported symptoms in dry eye disease. *Ocul Surf* 2006;4:137-145
96. de Paiva CS, Lindsey JL, Pflugfelder SC. Assessing the severity of keratitis sicca with videokeratographic indices. *Ophthalmology* 2003;110:1102-9 (LA1)
97. www.socialresearchmethods.net/kb/scallik.htm (Accessed July 24, 2006).
98. (No authors listed). Methodologies to diagnose and monitor dry eye: report of the Diagnostic Methodology Subcommittee of the International Dry Eye Workshop (2007). *Ocul Surf* 2007;5:108-152
99. Bron AJ, Evans VE, Smith JA. Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea* 2003;22:640-50
100. Nom MS. Vital staining of cornea and conjunctiva. *Acta Ophthalmol* 1972;Supp 113:3-66
101. Nom MS. Lissamine green vital staining of cornea and conjunctiva. *Acta Ophthalmol* 1973;51:483-91
102. Nom MS. Vital staining of cornea and conjunctiva. *Acta Ophthalmol (Kbh)* 1962;40:389-401
103. Nom MS. *External eye: methods of evaluation*. Copenhagen, Scriptor, 1974:51-5
104. Korb DR, Korb JM. Corneal staining prior to contact lens wearing. *J Am Optom Assn* 1970;41:228-32
105. Schwallie JD, McKenney CD, Long WD, McNeil A. Corneal staining patterns in normal non-contact lens wearers. *Optom Vis Sci* 1997;74:92-8
106. Josephson JE, Caffery BE. Corneal staining characteristics after sequential instillations of fluorescein. *Optom Vis Sci* 1992;69:570-3
107. Caffery BE, Josephson JE. Corneal staining after sequential instillation of fluorescein over 30 days. *Optom Vis Sci* 1991;68:881-9