

# Ensayos Clínicos DEWS

## Diseño y Realización de Ensayos Clínicos: *Informe del Subcomité de Ensayos Clínicos del Taller Internacional sobre Ojo Seco (2007)*

**RESUMEN** Este informe resume algunos conceptos universales sobre los ensayos clínicos en general y otros aspectos relacionados con ensayos clínicos diseñados específicamente para el estudio de intervenciones terapéuticas en la enfermedad de ojo seco. Este informe también proporciona recomendaciones para el diseño logístico y la implementación de tales ensayos. Identifica las peculiaridades de la enfermedad de ojo seco que complican el diseño de los ensayos clínicos, tales como la falta de correlación entre signos y síntomas, así como la probabilidad de que las intervenciones de control tengan un efecto (placebo). Se revisan las estrategias para los ensayos ambientales y para los ensayos con entorno adverso controlado.

**PALABRAS CLAVES** ensayos clínicos, DEWS (Taller Sobre Ojo Seco), ojo seco, Taller Sobre Ojo Seco

### I. INTRODUCCIÓN

Los ensayos clínicos en la enfermedad de ojo seco constituyen un reto para los clínicos, epidemiólogos y bioestadísticos, así como para los que buscan la aprobación normativa para medicaciones u otras terapias.<sup>1</sup> Este informe resume algunos conceptos universales sobre los ensayos clínicos en general y aborda otros aspectos relacionados con los ensayos clínicos que han sido diseñados específicamente para el estudio de las intervenciones terapéuticas en la enfermedad de ojo seco. El nivel de evidencia para apoyar los datos de los ensayos clínicos se identifica en la bibliografía, según las directrices modificadas de las Prácticas

Aprobado para publicación Enero 2007.

Miembros del Subcomité de Ensayos Clínicos: **Kazuo Tsubota, MD (Director)**; Penny Asbell, MD; Murat Dogru, MD; Desmond Fonn, OD; Gary Foulks, MD (capitán); Debra Schaumberg, ScD, OD, MPH; Oliver Schein, MD, MPH; Hitoshi Watanabe, MD.

Los derechos de propiedad de los miembros del Subcomité se dan a conocer en las páginas 202 y 204.

No hay reimpressiones disponibles. Se puede acceder a los artículos en: [www.tearfilm.org](http://www.tearfilm.org)

La correspondencia relacionada con el Informe DEWS de este capítulo debe dirigirse a Kazuo Tsubota MD, Ophthalmology, Keio University School of Medicine, 35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokio 160-8582, Japón. Tel: 81-3-3353-1211. Fax: 81-3-3352-8703. Correo electrónico: [tsubota@sc.itc.keio.ac.jp](mailto:tsubota@sc.itc.keio.ac.jp)

©2007 Ethis Communications, Inc. *The Ocular Surface* ISSN: 1542-0124. (No se indican autores). Diseño y conducción de ensayos clínicos: informe del Subcomité de Ensayos Clínicos del Taller Internacional sobre Ojo Seco (2007). 2007;5(2):153-162.

Preferidas por la Academia Americana de Oftalmología. Este informe también proporciona recomendaciones para el diseño logístico y la implementación de tales ensayos.

### II. METAS DEL SUBCOMITÉ PARA ENSAYOS CLÍNICOS

Las metas del Subcomité para Ensayos Clínicos fueron revisar sistemáticamente la literatura, los procedimientos y los conceptos relacionados con los ensayos clínicos en general, reflexionar sobre los aspectos especiales relacionados con los ensayos clínicos que implican intervenciones terapéuticas en la enfermedad de ojo seco y presentar las directrices para realizar los ensayos clínicos con éxito.

### III. DIRECTRICES PARA LOS ENSAYOS CLÍNICOS EN GENERAL

Antes de iniciar un ensayo clínico debe existir un estado de equilibrio. En otras palabras, debe haber suficiente duda sobre la efectividad de la intervención particular objeto de consideración como para justificar su ocultamiento a una parte de los sujetos en estudio y al mismo tiempo, debe existir la convicción suficiente en el potencial terapéutico de la intervención como para justificar la exposición de la otra parte de los participantes voluntarios y aptos del estudio. Si estas condiciones se cumplen, debe considerarse una serie de aspectos adicionales necesarios en el diseño y realización del ensayo clínico para que puedan obtenerse resultados válidos (Tabla 1). Los procesos importantes incluyen la formulación de una pregunta concisa y específica del estudio, la especificación de la variable de valoración primaria, la estimación estadística del tamaño de muestra necesario, la especificación de la duración del seguimiento y el cronograma específico para las evaluaciones inicial y de seguimiento, la selección de la población en estudio, la definición de la variable de valoración primaria, la asignación aleatoria de intervención(es)/tratamiento(s), el establecimiento de estrategias para el mantenimiento de la conformidad con la(s) intervención(es) o el/los tratamiento(s) y para el logro de índices de seguimiento altos y equilibrados. Además, es importante establecer una estructura de organización y de toma de decisiones y procedimientos específicos para la toma de datos y supervisión de la seguridad del paciente.

#### A. Diseño

El diseño más deseable de un ensayo clínico es un estudio transversal o de grupo paralelo, prospectivo, aleatorio, a doble ciego y controlado por un grupo placebo o excipiente. Otros diseños aceptables incluyen ensayos de equivalencia o de

**ESQUEMA GENERAL**

- I. Introducción
- II. Metas del Subcomité para Ensayos Clínicos
- III. Directrices para los ensayos clínicos en general
  - A. Diseño
  - B. Criterios de inclusión y de exclusión
  - C. Variables de valoración
  - D. Tamaño de muestra, aleatoriedad y análisis de datos
  - E. Administración de un ensayo clínico
- IV. Directrices para los ensayos clínicos en ojo seco
- V. Observaciones de previos ensayos clínicos en ojo seco
  - A. Peculiaridades de los ensayos clínicos en ojo seco
  - B. Parámetros de evaluación y de valoración
  - C. Atributos sugeridos de los ensayos clínicos en ojo seco
- VI. Características para facilitar ensayos clínicos multicéntricos y de colaboración internacional

superioridad para comparar una nueva terapia con otra que ya se ha aprobado o que es de uso común. Tales ensayos también deben diseñarse como estudios prospectivos, aleatorios y ciegos.<sup>2-5</sup> Los estudios de grupos paralelos idealmente deben permitir la comparabilidad del clima demográfico y ambiental o la actividad. Con tamaños de muestra lo suficientemente grandes, la aleatoriedad tenderá a asegurar la distribución equitativa de las características demográficas entre los grupos de tratamiento. Si existe alguna inquietud particular en relación con uno o más factores demográficos (por ejemplo, sexo o edad), puede obtenerse la distribución equitativa de estos factores entre los grupos de tratamiento si se aleatoriza en pequeños bloques. Lamentablemente, casi nunca es posible implementar esta técnica en la práctica y ello hace que deba examinarse un número de pacientes considerablemente mayor para encontrar las correspondencias adecuadas.

En general, los estudios con diseños transversales tienen la ventaja de utilizar al paciente como su propio control, pero al mismo tiempo presentan problemas que generan efectos contradictorios; como en el ojo seco, es posible que los efectos

**Tabla 1.** Atributos de los ensayos clínicos bien diseñados

1. Formulación de una pregunta de estudio concisa y específica
2. Especificación de una variable de valoración primaria
3. Estimación estadística del tamaño de muestra necesario
4. Especificación de la duración del periodo de seguimiento y del cronograma específico para las evaluaciones inicial y de seguimiento
5. Selección de la población en estudio
6. Definición de la variable de valoración primaria
7. Asignación al azar de intervención(es)/tratamiento(s)
8. Estrategias para el mantenimiento de la conformidad con la(s) intervención(es) o el/los tratamiento(s) asignados y para el logro de altos y balanceados índices de seguimiento
9. Establecimiento de una estructura organizativa y de toma de decisiones
10. Especificación de los procedimientos para la recogida de datos y para la supervisión de la seguridad del paciente

persistentes de un tratamiento perduren más que los de otro. Además, si un tratamiento interfiere con otro, los efectos secuenciales de las medicaciones o tratamientos de la prueba podrían generar efectos contradictorios. Hay tres suposiciones inherentes a un estudio transversal:

- 1) El tratamiento no cura la enfermedad.
- 2) No hay arrastre de un periodo a otro.
- 3) Para contribuir al análisis, todos los pacientes deben completar todos los periodos.

La ventaja perceptible de un estudio transversal sobre un estudio paralelo se basa en la suposición de que la variabilidad *intrapaciente* es menor que la variabilidad *interpacientes*. Esto no siempre se cumple. Los periodos de lavado mediante tratamiento con placebo pueden utilizarse para anular los efectos persistentes de terapias anteriores, pero la duración del periodo de lavado debe ser suficiente para un lavado efectivo y dicha duración puede no conocerse o variar, dependiendo de los agentes específicos que se estudian. Conociendo estas inquietudes, una estrategia de diseño compensatorio importante en ensayos transversales es aleatorizar la secuencia de administración del agente en estudio y del agente de control, así algunos individuos recibirán primero la terapia activa, mientras que otros recibirán primero la terapia de control.

**B. Criterios de Inclusión y de Exclusión**

Es esencial definir los criterios adecuados de inclusión y exclusión con el fin de asegurar la integridad del ensayo. Los criterios de inclusión deben identificar un número adecuado de variables para definir específicamente la población que será estudiada (Tabla 2). Tales criterios generalmente incluyen: 1) la capacidad de los sujetos para proporcionar un consentimiento informado, 2) la capacidad para ceñirse al protocolo y 3) la existencia de suficiente gravedad de la enfermedad para demostrar un efecto de la terapia estadísticamente significativo, que tenga sentido desde el punto de vista clínico. Los criterios específicos de diagnóstico se suelen definir para asegurar la homogeneidad del estado de la enfermedad, lo cual puede conducir a un estudio más preciso.

Los criterios de exclusión pueden utilizarse para excluir, por ejemplo: 1) sujetos con una enfermedad concomitante que podrían hacer confusa la respuesta a la terapia, 2) sujetos propensos a no ceñirse al protocolo o a perderse en el seguimiento y 3) sujetos con una hipersensibilidad o intolerancia conocida a la terapia propuesta (Tabla 3).

Cuando se seleccionan criterios de inclusión y exclusión, el investigador debe tener conciencia de las concesiones

**Tabla 2.** Criterios de inclusión para ensayo clínico

1. Los sujetos deben ser capaces de proporcionar consentimiento informado.
2. Los sujetos deben ser capaces de ceñirse al protocolo.
3. La gravedad de la enfermedad debe ser suficientemente alta como para demostrar un efecto de la terapia estadísticamente significativo, que tenga sentido desde el punto de vista clínico.
4. Deben definirse criterios específicos de diagnóstico para asegurar la homogeneidad del estado de la enfermedad, lo cual puede conducir a un estudio más preciso.
5. Los sujetos deben ser capaces de responder al mecanismo de acción de la intervención propuesta para estudio.

**Tabla 3.** Criterios de exclusión para ensayos clínicos

1. Los sujetos tienen enfermedad concomitante que puede confundir la respuesta a la terapia.
2. Los sujetos no tienden a ceñirse al protocolo o tienden a ser perdidos en el seguimiento.
3. Los sujetos tienen una hipersensibilidad conocida o intolerancia a la terapia propuesta.
4. Los sujetos usan terapia concomitante que afecta la función lagrimal o la integridad de la superficie ocular.
5. Los sujetos se han sometido a cirugía o a otro tipo de manipulación del ojo que podría introducir un efecto confundido entre los parámetros de valoración o interferir con el mecanismo de acción de la intervención propuesta para estudio.

inherentes entre la validez interna del ensayo y su capacidad de generalización al universo de personas que padecen la enfermedad de interés. Los criterios de inclusión y exclusión con mínimas restricciones hacen el reclutamiento más fácil y proporcionan una base más amplia para la generalización de los resultados del estudio, pero los efectos del tratamiento pueden verse enturbiados por la heterogeneidad del estado de la enfermedad.

**C. Variables de valoración**

La variable de valoración que se utiliza para comparar tratamientos puede ser un evento clínico o una variable de valoración indirecta. La variable de valoración primaria debe seleccionarse antes de iniciar la recogida de datos, pues su frecuencia de aparición afectará a varios aspectos del diseño del estudio, incluyendo la duración del mismo y el tamaño de la muestra. Aunque algunos ensayos clínicos han empleado análisis post-hoc de las variables de valoración, los organismos reguladores a menudo son reacios a aceptar tales análisis en ensayos fundamentales. Sin embargo, es adecuado que la mayoría de los ensayos también recojan y analicen información en un número de variables de valoración secundarias. Esto puede proporcionar más información que podría contribuir a la evaluación general de los tratamientos del estudio.

Las variables de valoración indirectas son características cuantificables de la enfermedad, que reflejan de manera confiable un parámetro de valoración que es clínicamente importante pero difícil de determinar con precisión. Por ejemplo, la medida de la frecuencia de instilación obligatoria de gotas humectantes puede ser una medida subjetiva indirecta cuantificable de la frecuencia/duración del malestar que se sufre durante el día. Asimismo, una medida indirecta objetiva de la osmolaridad de la película lagrimal puede ser la conductividad eléctrica de una muestra de lágrima. La variable de valoración indirecta debe validarse como indicador de valoración confiable y apropiado, pero puede tener un valor especial en una afección como el ojo seco, donde la correlación entre signos y síntomas es pobre y se necesita evidencia objetiva de los cambios en la enfermedad.

**D. Tamaño de Muestra, Aleatorización y Análisis de Datos**

El tamaño de muestra de un ensayo clínico debe ser

lo suficientemente grande como para permitir un análisis estadístico potente de las hipótesis primarias del estudio. También puede permitir comparaciones estadísticas entre subgrupos, si ello se considera deseable o necesario para clarificar la respuesta terapéutica. Es esencial que el ensayo tenga el tamaño suficiente para poder detectar un efecto de tratamiento que tenga sentido desde el punto de vista clínico, así como un efecto estadísticamente significativo. El análisis estadístico debe ser adecuado para el tamaño, el diseño, la(s) variable(s) de valoración y la duración del estudio. La potencia para detectar una diferencia determinada entre tratamientos es directamente proporcional al tamaño de la muestra y a la diferencia de tratamiento, e inversamente proporcional al nivel de significación alfa y a la variabilidad. Un factor clave es la selección, por los diseñadores del estudio, de una diferencia clínicamente significativa. Ello les permite determinar el número necesario de pacientes para detectar una diferencia que sea al menos de esa magnitud, si es que ésta existe.

La aleatoriedad del tratamiento de la prueba o del control es generalmente la mejor estrategia disponible en los ensayos clínicos para protegerse del sesgo de selección del tratamiento. Existen métodos muy variados para establecer la aleatoriedad. Actualmente la mayoría de los investigadores utiliza listas aleatorias generadas por la computadora, que pueden luego estratificarse por centro de estudio y por alguna característica definida antes del estudio (por ejemplo, gravedad de la enfermedad). Debe registrarse por escrito una descripción del esquema de aleatorización utilizado para generar las asignaciones de tratamientos. Esta descripción debe incluir la información suficiente para permitir que una persona reproduzca el esquema de asignación y el proceso de asignación debe establecer un método claro para hacer un seguimiento.

Las asignaciones de tratamiento no deben ser conocidas ni por el paciente, ni por el médico, ni por la persona que realiza la asignación, hasta que el paciente haya sido oficialmente inscrito y aleatorizado en el estudio. Preferentemente, el diseño del estudio debe ser desconocido para los pacientes y los médicos hasta su finalización. Esto puede implementarse de manera más fácil si las asignaciones las realiza una persona o un grupo que no pertenezca a la clínica. Los investigadores también deben saber, particularmente en estudios pequeños, que podría ocurrir un sesgo de aleatorización que debe controlarse o evaluarse. Las características iniciales de los grupos en estudio también pueden variar al azar y si son lo suficientemente grandes, tales diferencias pueden tener un impacto sobre las comparaciones entre tratamientos. La estrategia para el análisis de datos del ensayo clínico debe delinearse con antelación y debe adecuarse a la forma de la(s)

**Tabla 4.** Análisis de los datos: poblaciones a analizar

1. Intención de Tratar (ITT): Todos los sujetos asignados al azar.
2. Intención de Tratar Modificada ( Mod ITT): Todos los sujetos asignados al azar que reciben al menos una dosis de medicación
3. Población por protocolo (PP): Todos los sujetos asignados al azar que han completado el tratamiento según el protocolo

variable(s) de valoración especificada(s) con los métodos de análisis apropiados.

La característica clave en el análisis de ensayos clínicos es la adhesión al principio de “intención de tratar”. Es decir, el análisis primario de los datos en un ensayo debe conducirse clasificando a los sujetos en estudio en base al tratamiento original al cual fueron asignados, sin importar el tratamiento que realmente recibieron ni la adhesión al protocolo del estudio (Tabla 4). La buena práctica clínica dictamina que la dirección clínica (o sea, el equipo de organización) realice la evaluación de los pacientes que cumplen los requisitos y las visitas, antes de revelar la asignación de los tratamientos. Además, debe definirse a priori en el plan de protocolo y análisis estadístico, qué población es primaria.

Pueden utilizarse métodos estadísticos para tratar los datos que faltan, por ejemplo, *arrastré de la última observación disponible (LOCF)* o sustitución de la variable de valoración. Idealmente, los resultados de eficacia y seguridad de todas las poblaciones tendrán una coincidencia general. Sin embargo, pueden aparecer diferencias, por ejemplo cuando los sujetos se retiran del estudio debido a fallos en la eficacia o a problemas de seguridad. El intercambio de tratamientos, el pobre cumplimiento con el protocolo y la pérdida de sujetos para el seguimiento, son amenazas clave a la validez de un ensayo clínico, por lo que deben realizarse todos los esfuerzos posibles para asegurar la adhesión más completa al protocolo y el seguimiento del estudio. Cuando hay pérdida de sujetos para el seguimiento, por lo general se conduce una serie de análisis, bajo varias suposiciones relacionadas con la frecuencia de eventos entre los pacientes que se han perdido para el seguimiento. De igual modo, un análisis secundario puede justificar el tratamiento recibido, así como las diferencias de cumplimiento con el protocolo, pero éstos no son sustitutos del análisis primario basado en la “intención de tratar”.

Los métodos analíticos básicos para los ensayos clínicos pueden encontrarse en libros de textos de bioestadística y en otras fuentes. Los análisis de resultados basados en comparaciones de la proporción de pacientes que han experimentado el resultado de interés, son métodos comunes para analizar los datos del ensayo. Ellos son generalmente válidos mientras la intensidad del seguimiento sea comparable en los dos grupos de tratamiento, las pérdidas de sujetos para el seguimiento sean bajas y los grupos de tratamiento tengan características iniciales comparables.

La evaluación estadística de la diferencia en proporciones puede llevarse a cabo usando la prueba exacta de Fisher, o una prueba de chi cuadrado si es pertinente. Sin embargo, con el análisis simple de la proporción de pacientes que experimentan el resultado no se puede tomar en cuenta la duración del seguimiento. Esto puede resultar importante dentro del marco de muchos ensayos clínicos, en los que los pacientes son reclutados durante un largo periodo de tiempo y luego seguidos a través de un punto de tiempo específico del calendario, lo cual da como resultado duraciones variables del periodo de seguimiento del paciente. El análisis de los datos de esos estudios por regla general se aborda usando métodos de análisis de tablas de vida, que proporcionan medios estadísticos para tratar con duraciones variables de los periodos de seguimiento. El ajuste para las diferencias

en las características iniciales, puede abordarse ya sea por estratificación o por análisis multivariable. Los investigadores deben ser conscientes de que el problema sobre qué constituye significación estadística es complejo y deben interpretar los valores de *P* con precaución, fundamentalmente porque la mayoría de los ensayos arrojarán datos para varias variables de valoración. Las comparaciones estadísticas no pueden considerarse mutuamente independientes. Es obligatorio considerar el ajuste adecuado para comparaciones múltiples.

#### E. Administración de un Ensayo Clínico

La organización y administración de un ensayo clínico es vital para su éxito. Una estructura organizativa es deseable para ensayos clínicos grandes y multicéntricos. En la Figura 1 se muestra un esquema organizativa a modo de ejemplo.

Es necesario realizar la preparación anticipadamente y contar con procedimientos estandarizados escritos para cada paso de la realización de un ensayo clínico, con el fin de evitar el alto riesgo de errores o de datos perdidos. Puede accederse a los apéndices que se citan al final de este capítulo en: [www.tearfilm.org](http://www.tearfilm.org). Debe prepararse un Manual de Procedimientos. Los elementos de un manual adecuado se listan en el Apéndice 1.<sup>6-11</sup>

Deben seguirse la Normas de Buenas Prácticas Clínicas para garantizar la calidad. Las directrices para patrocinadores e investigadores se detallan en el Apéndice 2 y, entre ellas, está el cumplimiento de los requisitos normativos, que incluyen: 1) papel del patrocinador, 2) papel del investigador, 3) papel clínico y funcional del laboratorio de investigación, 4) comité de ética o comité para la protección de las personas, 5) Conferencia Internacional sobre Armonización y 6) directrices reguladoras.<sup>12-30</sup> Es adecuado preparar un Manual del Investigador para el fármaco en estudio (Apéndice 3).<sup>31</sup> Debe esbozarse el uso del producto médico en investigación (Apéndice 4).<sup>32-36</sup> Deben identificarse los eventos adversos y su control (Apéndice 5).<sup>37-43</sup> El proceso de aprobación ética debe conducirse a través de Juntas de Revisión Institucionales, del centro o designadas, apropiadas para el investigador. Los datos de los ensayos clínicos deben ponerse a disposición tras la conclusión del estudio y del análisis de los datos.<sup>43</sup>

#### IV. DIRECTRICES PARA LOS ENSAYOS CLÍNICOS EN LA ENFERMEDAD DE OJO SECO

Las consideraciones generales para los ensayos clínicos en la enfermedad de ojo seco incorporan los conceptos claves delineados para los ensayos clínicos en general. Los ensayos clínicos en la enfermedad de ojo seco pueden incluir diseños ambientales prospectivos y diseños comprobatorios prospectivos. Es deseable un protocolo personalizado para el mecanismo de acción hipotético del fármaco o para la intervención a probar.

Un ensayo ambiental debe acogerse a las directrices generales para diseños, mencionadas arriba, con características de estudio prospectivo, aleatorio, a doble ciego y controlado por placebo o excipiente. El estudio debe tener la adecuada duración para demostrar la eficacia y la seguridad.

Los criterios de inclusión y exclusión deben identificar a una población potencialmente sensible y deben seleccionarse de manera que eviten o minimicen la regresión a la media

ENSAYOS CLÍNICOS DEWS

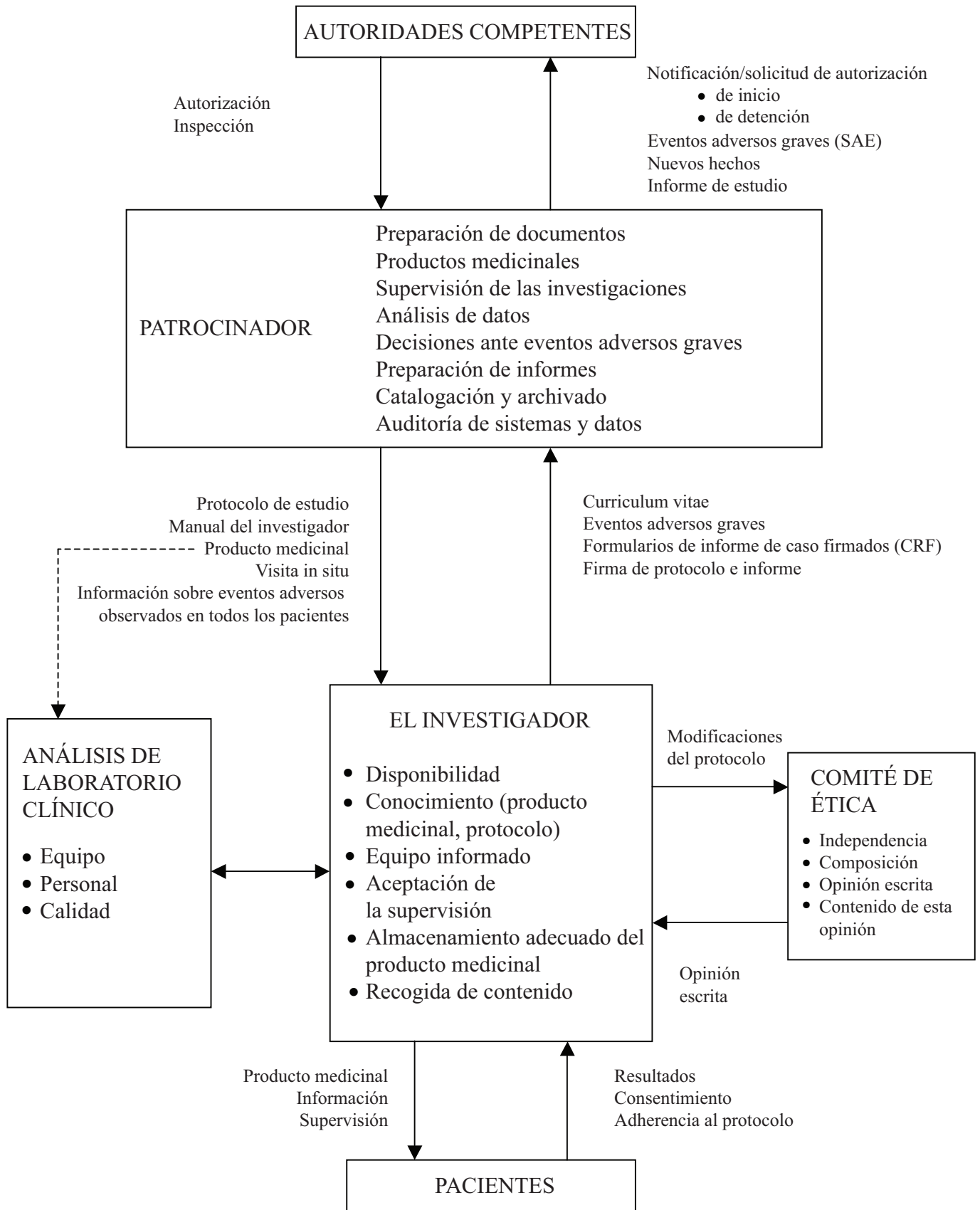


Figura 1. Organización general del ensayo clínico. Reimpreso con permiso de: Spriet A, Dupin-Spriet T. Clinical trials and quality (capítulo 1), en *Good practice of clinical drug trials*. Switzerland, Karger, 2005, ed 3, p 7.

o el sesgo de observación. Este enfoque debe excluir: 1) la presencia o ausencia de cualquier enfermedad de la superficie ocular que cause ojo seco, que no sea la afección para la que se está probando el fármaco o el dispositivo; 2) la presencia o ausencia de una enfermedad sistémica asociada a ojo seco que no sea la afección primaria que causa ojo seco; 3) el uso de medicaciones sistémicas con posible influencia sobre la película lagrimal, la secreción lagrimal o la superficie ocular; 4) el uso de medicaciones tópicas concomitantes o previas para los ojos que alteren el efecto del fármaco o el dispositivo que se evalúa; 5) antecedentes de cirugía ocular previa, incluyendo cirugía refractiva, tatuaje de párpados, cirugía de párpados o cirugía de córnea; 6) presencia o ausencia de enfermedad en la glándula meibomio asociada, apropiada para el estudio de parámetros; 7) presencia o ausencia del uso de lentes de contacto. Cuando los pacientes están en un régimen estable de terapia lubricante que no interfiere específicamente con el mecanismo de acción de la formulación del fármaco o la intervención en estudio, podría ser aceptable inscribir a tales pacientes mientras éstos continúan ininterrumpidamente su tratamiento de fondo. Sin embargo, será necesario vigilar el uso de esta terapia de fondo.

El tamaño de la muestra deber ser lo suficientemente grande como para validar el análisis estadístico y las comparaciones estadísticas entre subgrupos, si es necesario. Debe proporcionar potencia estadística para apoyar las conclusiones del estudio. Si las conclusiones del estudio muestran la equivalencia entre los dos grupos de tratamiento, es importante entonces considerar la potencia del estudio para detectar una diferencia clínica significativa. Normalmente se exige una potencia (beta) mínima de 80%. Los niveles de gravedad de la enfermedad deben reconocerse y su distribución debe ser uniforme para no inclinar los resultados del estudio hacia una posible respuesta terapéutica positiva o negativa. Debe verificarse la capacidad de los sujetos para cumplir con el estudio y completarlo.

Un diseño de entorno adverso controlado (CAE) puede utilizarse para controlar el entorno, las actividades de los sujetos o una combinación de ambos factores durante el ensayo clínico, proporcionando con ello un entorno estresante para exacerbar los síntomas clínicos y los signos del ojo seco.<sup>44</sup> Tal prueba de estrés tiene especial valor para el establecimiento de un efecto farmacológico en un corto periodo de tiempo. La humedad, la temperatura y el aire son variables ambientales que se pueden supervisar y manipular. Las actividades pueden incluir tareas visuales y puede supervisarse la frecuencia de parpadeo y la estabilidad de la película lagrimal. El diseño del ensayo debe adecuarse a las características de un estudio prospectivo, aleatorio, ciego (hasta el mayor grado posible) y controlado. El reconocimiento de una posible adaptación del paciente a las condiciones del desafío ambiental, requiere de un ajuste corrector en el análisis de los datos.<sup>45,46</sup> Cuando se selecciona una población de pacientes en base a la respuesta inocente al entorno desafiante, tal selección podría reducir el carácter de generalización de las conclusiones del estudio a todo el universo de la enfermedad de ojo seco.

## V. OBSERVACIONES DE ENSAYOS CLÍNICOS PREVIOS EN OJO SECO

### A. Peculiaridades de los Ensayos Clínicos en Ojo Seco

Algunos ensayos han observado una estrecha relación entre signos y síntomas y otros no. La mayoría de los ensayos con fármacos han mostrado disparidad entre signos y síntomas.<sup>47-76</sup> Existe aparentemente una prominente respuesta al placebo o excipiente en la mayoría de los ensayos clínicos que evalúan una terapia tópica para la enfermedad de ojo seco.<sup>1</sup> Aunque los efectos del placebo se han observado en numerosos ensayos que evalúan síntomas, también hay una notable respuesta al placebo para parámetros objetivos, observada en ensayos clínicos para ojo seco. La explicación para esta prominente respuesta al placebo no está clara, pero podría explicarse parcialmente por regresión a la media. La mayoría de los ensayos clínicos previos definen los criterios de participación como un nivel mínimo de gravedad en los parámetros de valoración. Aunque esta táctica asegura un nivel de gravedad que permite la demostración de un efecto cuantificable, también predispone para la regresión a la media.

El efecto humectante y lubricante de cualquier control aplicado por vía tópica puede proporcionar también una mejoría, con respecto al estado inicial, en las manifestaciones de la enfermedad de ojo seco. Se ha demostrado que la participación en un ensayo clínico mejora el cumplimiento.<sup>3,5</sup> Las mejorías observadas tanto en grupos de control como en ensayo activo tras la asignación aleatoria a una terapia, puede reflejar, tanto en el sujeto como en el observador, la anticipación y el deseo de un efecto favorable de cualquier terapia propuesta. Este fenómeno se ha denominado "expectativa de aleatoriedad" y puede influir en la respuesta de cualquiera de los tratamientos asignados.

### B. Parámetros de Evaluación y de valoración

Una revisión de la literatura revela que la prueba de Schirmer, el tiempo de ruptura de la película lagrimal (TFBUT), las tinciones córneo-conjuntivales y los síntomas de incomodidad, son las variables de valoración más comunes utilizadas en los ensayos clínicos de ojos secos. Se observó también el uso de una amplia gama de marcadores en diferentes ensayos dependiendo de la naturaleza del fármaco (lágrimas artificiales, fármacos antiinflamatorios y secretagogos). En esta revisión se encontró que la duración de los ensayos era relativamente corta, variando entre 6 y 8 semanas en ensayos con lágrimas artificiales y con tiempos más largos en ensayos con agentes antiinflamatorios o secretagogos (entre 8 y 12 semanas con períodos de seguimiento entre 3 y 12 meses de duración).

Aparte de las variables de valoración antes mencionadas, los ensayos que involucran agentes antiinflamatorios usaron pruebas, biomarcadores y variables de valoración que incluían citología de impresión (número de células caliciformes, morfología epitelial y expresión de HLA DR, CD3,4,8, 40, Apo2.7 y los perfiles de citoquinas). Los ensayos de secretagogos estudiaron también la osmolaridad, las expresiones de ARNm de MUC 1, 2, 4 y 5AC. Además de las variables de valoración comunes antes mencionadas, los ensayos con dispositivos que incluían la retención lagrimal, como gafas protectoras y taponos puntales, tomaron en consideración el índice de aclaramiento lagrimal, la osmolaridad lagrimal y el índice de función

lagrimal (TFI), así como la estandarización de la humedad y temperatura ambiental. Estos parámetros se han utilizado para la evaluación de terapias con 1) lágrimas artificiales<sup>47-52</sup>; 2) agentes antiinflamatorios, incluyendo corticosteroides<sup>53,54</sup> y ciclosporina<sup>55-61</sup>; 3) suero autólogo<sup>62-66</sup>; secretagogos, incluyendo los de estimulación acuosa<sup>67-72</sup> y mucínica<sup>73-78</sup>; 4) dispositivos<sup>79-86</sup>; y otras terapias.<sup>87-88</sup>

### C. Atributos Sugeridos de los Ensayos Clínicos en Ojo Seco

Los criterios de inclusión para ensayos clínicos en ojo seco deben identificar, basados en el mecanismo de acción del tratamiento o intervención propuestos, una población potencialmente sensible en la cual es probable que el tratamiento o la intervención demuestren su eficacia. Los criterios de inclusión y exclusión deben seleccionar una población específica que evite o minimice las variables con efectos contradictorios y la regresión a la media. Los criterios de exclusión se describieron en detalle en la Sección IV.

Es más adecuado el uso de un protocolo personalizado para el mecanismo de acción del fármaco o para la intervención a probar. Las variables de valoración deben seleccionarse según el mecanismo de acción del fármaco o la intervención que se estudia. El Subcomité aconseja seriamente la inclusión de biomarcadores y/o marcadores sustitutos del estado de la enfermedad para ensayos futuros, según convenga con el continuo desarrollo de la tecnología, pero reconoce que será necesario validar tales marcadores sustitutos. Por ejemplo, el aumento de la osmolaridad de las lágrimas es un marcador establecido del ojo seco y existen diferentes métodos posibles para medirla.

Los marcadores sustitutos pueden ser directos o correlativos. Los marcadores sustitutos directos son los que se derivan de las mismas propiedades físicas o químicas como marcador primario, (por ejemplo, la conductividad de la lágrima como medida de la osmolaridad lagrimal). Los marcadores sustitutos correlativos son los que se correlacionan con el marcador primario, pero pueden producirse también por otros mecanismos (por ejemplo, un solo nivel de citoquina inflamatoria como marcador de inflamación).

En la enfermedad de ojo seco, en la cual la variabilidad de un signo o un síntoma puede estar muy influido por el ambiente o por las actividades de las tareas visuales en cualquier momento dado, la medición de marcadores sustitutos confiables y duraderos de la actividad de la enfermedad debe considerarse como una medida válida de la efectividad de cualquier terapia o intervención. Las variables de valoración deben medirse con la adecuada precisión y reproducibilidad. La medición del parámetro de valoración primaria debe estar acompañada por una prueba bien validada. Esto se cumple para los signos clínicos de la enfermedad y las medidas indirectas, así como para los síntomas de incomodidad y perturbación visual.<sup>89-96</sup> La variable de valoración primaria puede ser un síntoma o un signo para un análisis de valoración válido, pero algunos países pueden exigir la aprobación reglamentaria de ambos. Los síntomas deben graduarse en un sistema de puntuación bien definido, como la escala visual análoga (VAS), o con las puntuaciones Likert.<sup>2,97</sup>

En reconocimiento a la prominencia de la respuesta a

placebo y excipiente en ensayos clínicos de ojo seco, el Subcomité realizó varias observaciones. Debido a que no se ha encontrado un verdadero placebo que carezca del efecto lubricante, podría tomarse en consideración una opción de no tratamiento. Aunque tal diseño tiene las limitaciones de posibles restricciones por parte de la junta de revisión institucional y dado que los pacientes podrían tender al uso intermitente de lubricantes sin receta médica que podrían hacer confuso el resultado, la consideración de un diseño tal es ventajosa. En ausencia de tal protocolo, el Subcomité recomienda considerar 1) un ensayo aleatorio ciego, en el cual el inicio del tratamiento también se oculta tanto para el investigador como para el sujeto, o 2) un estudio de retirada, en el cual todos los pacientes reciben el medicamento activo, seguido de una aleatoriedad para el excipiente. Una ventaja de tal diseño es que todos los sujetos reciben la medicación activa en algún momento del ensayo, lo cual podría servir para mejorar la disposición de los sujetos a participar en un ensayo bien diseñado.

El Subcomité recomienda la inclusión de los siguientes parámetros de valoración:

1. Una medida objetiva de la función visual (por ejemplo, Agudeza Visual Funcional);
2. Determinación del volumen y la producción lagrimal (por ejemplo, la prueba de Schirmer o la prueba de dilución de fluoresceína);
3. Determinación de la estabilidad lagrimal (por ejemplo, ruptura lagrimal con fluoresceína (TFBUT) o un dispositivo TFBUT no invasivo como la vídeoqueratografía)<sup>96</sup>;
4. Medida de la composición lagrimal (por ejemplo, osmolaridad, determinación del contenido de proteína específica o la medición de mediadores inflamatorios en las lágrimas);
5. Medida de la integridad de la superficie ocular.

Existe consenso en que la determinación de la integridad de la superficie ocular se realiza mejor, en este momento, por la tinción de la superficie ocular con fluoresceína y verde lisamina o rosa de bengala (ver parámetros del Informe del Subcomité para Metodologías de Diagnóstico en esta publicación, para las concentraciones adecuadas y uso de filtros de barrera),<sup>98</sup> aunque las limitaciones de tal evaluación han sido documentadas en ensayos clínicos previos.<sup>58,69,76</sup> Un sistema de graduación estandarizada debe graduar independientemente la tinción de la córnea y la conjuntiva y registrar las puntuaciones de las áreas individuales, así como las puntuaciones de las áreas combinadas, para el análisis (ver el Informe del Subcomité para Metodologías de Diagnóstico, para el sistema de graduación apropiado).<sup>98</sup> El sistema de graduación debe tomar en consideración uno o dos puntos de tinción en el cuadrante nasal inferior de la córnea, porque tal tinción puede aparecer en sujetos normales.<sup>99-107</sup> La tinción de la carúncula conjuntival y del pliegue semilunar no debe tenerse en cuenta, pues aparece en la mayoría de los sujetos normales.<sup>101</sup>

Otras pruebas que pueden utilizarse como variables de valoración en protocolos específicos podrían incluir la citología de impresión y la citometría de flujo (para los ensayos seleccionados consulte los parámetros del Informe del Subcomité para Metodologías de Diagnóstico, para los

métodos y procedimientos de tinción adecuados).<sup>98</sup> Los avances tecnológicos en la medida de la estabilidad de la película lagrimal, la medida del volumen del menisco o la medida del grado de protección de la superficie ocular y de la permeabilidad epitelial, pueden en el futuro permitir la determinación más precisa de la función lagrimal y la integridad de la superficie ocular. Sin embargo, actualmente estas técnicas no están bien validadas en ensayos clínicos.

El análisis de los resultados en una enfermedad multifactorial con varios parámetros clínicos de anomalía de la película lagrimal, daño de la superficie ocular y deterioro funcional, podría ser recogido por índices compuestos de gravedad de la enfermedad. Este enfoque se ha utilizado en la evaluación de la enfermedad reumática, con desarrollo consensuado de los índices de Congreso Americano de Reumatología (ACR) (ACR50 y ACR70), que evalúan múltiples descriptores de la gravedad de la enfermedad. Ha existido una evaluación inadecuada de tales índices compuestos en la enfermedad de ojo seco y actualmente no hay índices validados disponibles. El comité identifica como necesidad y área para deliberación futura, el desarrollo y validación de tales índices para la evaluación de la enfermedad de ojo seco.

El análisis estadístico apropiado y cuidadosamente planificado es vital para la evaluación de los datos del ensayo clínico. La estrategia de análisis dependerá de la variable de valoración primaria seleccionada para el ensayo y ésta debe seleccionarse antes de iniciar la recogida de datos. El principio general de análisis con "intención de tratar" debe acatarse para el análisis primario de los datos.

## VI. CARACTERÍSTICAS PARA FACILITAR ENSAYOS CLÍNICOS MULTICÉNTRICOS Y DE COLABORACIÓN INTERNACIONAL

El Subcomité recomienda el desarrollo de criterios a utilizar en escenarios internacionales. El uso de una terminología uniforme es un aspecto importante a considerar para tales ensayos internacionales. Esto puede requerir que los términos se traduzcan a otras lenguas y luego nuevamente a la lengua original, para ganar en claridad y precisión. Es necesario resolver las connotaciones culturales o étnicas, o las implicaciones en la tecnología. Debe haber una interpretación uniforme de las variables de valoración con protocolos estandarizados para la medición y el registro de los datos. Los procedimientos de prueba deben ser uniformes, con el uso de reactivos estandarizados, protocolos estandarizados y registro consistente de los resultados. Es necesario mantener los niveles de destreza de las personas que recogen los datos y de los observadores, incluyendo en este aspecto la certificación de investigadores, de coordinadores de investigación y de técnicos. Debe haber un esfuerzo por reducir los sesgos relacionados con las diferencias poblacionales (raza, origen étnico, clima).

Puede accederse a estos apéndices en [www.tearfilm.org](http://www.tearfilm.org):

- Apéndice 1. *Esbozo de un manual de procedimientos*
- Apéndice 2. *Directrices para las Buenas Prácticas Clínicas*
- Apéndice 3. *Redacción del Manual del Investigador para el fármaco en estudio*
- Apéndice 4. *Uso del producto medicinal en investigación*

- Apéndice 5. *Eventos adversos y temas de gestión*

## REFERENCIAS

(Los códigos que aparecen entre paréntesis tras las referencias indican el nivel de evidencia, según se describe en la Tabla 1. CS = Estudio clínico; BS = Ciencia básica).

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. Weihrauch 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, Rife 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 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 (LA1)
  48. Lopez Bernal D, Ubels JL. Artificial tear composition and promotion of recovery of the damaged corneal epithelium. *Cornea* 1993;12:115-20 (LA1)
  49. Gilbard JP, Farris RL. Tear osmolarity and ocular surface disease in keratoconjunctivitis sicca. *Arch Ophthalmol* 1979;97:1642-6 (LA1)
  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 (LA1)
  51. Sand BB, Mamer K, Norm MS. Sodium hyaluronate in the treatment of keratoconjunctivitis sicca. A double masked clinical trial. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1989;67:181-3 (LA1)
  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 (LA1)
  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, Dartt 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, Dartt 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. Mundas 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, Mundas 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. Gefamate 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. Balam 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.