

EL ENSAYO CLINICO: Protocolos de investigación, cálculo del tamaño de la muestra, información de resultados y consideraciones éticas (II parte).

D. Sáenz-Campos, / Gich**, E. Massana**, MJ Barbanoj***

RESUMEN

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

En una primera parte se expusieron aspectos relativos a las fases de investigación clínica, al diseño y a la metodología experimental. En la presente revisión se describe la elaboración de protocolos de investigación con énfasis en sus diferentes apartados; se ofrecen elementos para la estimación adecuada del tamaño de la muestra y se señalan algunas observaciones de interés al momento de presentar, o bien revisar, el informe de un estudio científico.

Finalmente, el tema se complementa con una aproximación general a las recomendaciones de contenido ético, necesarias para el buen desarrollo

de los ensayos que sustentan la investigación en seres humanos. (*Rev. Cost. Cienc. Méd. 1996: 17-1:56-65*)

Palabras clave: Key words. Ensayo clínico, protocolos, tamaño de muestra, ética.

INTRODUCCION

La adquisición de nuevos conocimientos médicos por medio de la aplicación del método científico parte de la formulación de propuestas razonadas. Los cuestionamientos inductivos, sistemáticos, críticos y objetivos a partir de la observación cuidadosa de los eventos cotidianos promueve el desarrollo de trabajos de investigación clínica.

Los ensayos clínicos constituyen el fundamento de la investigación clínica. Puesto que su realización supone la participación de pacientes o sujetos sanos, ha de planificarse, describirse y documentarse adecuadamente, para no exponerlos a riesgos ni invertir esfuerzos innecesarios.

En vista de la relevancia que conlleva la realización de ensayos clínicos, la presente constituye una continuación de la revisión sobre el tema de los ensayos clínicos, con énfasis en aspectos relativos a la elaboración de protocolos, a la estimación adecuada del tamaño de la muestra y a la información de resultados. Finalmente, se procede a ofrecer unas consideraciones básicas

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

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

de contenido ético, aplicables a la experimentación en humanos, en todo momento y en todo lugar.

PROTOSCOLOS DE INVESTIGACION

Un ensayo clínico requiere la elaboración previa de un protocolo que describa detalladamente la propuesta de investigación. Los apartados básicos que suelen contener los protocolos son (1-3):

- (1) **Información general.** Contiene la identificación de la cuestión por ensayar (producto, técnica, procedimiento), del grupo de investigadores, los datos del promotor o de cualquier fuente de apoyo económico que se disponga para el ensayo, el lugar donde se realizará, la duración prevista, la fecha, y otros datos de interés.
- (2) **Introducción.** Sitúa la controversia que debería resolverse con la ejecución del ensayo, presenta la justificación de tal investigación y la contribución científica que se espera conseguir; así como la racionalidad o factibilidad de su ejecución.
- (3) **Objetivo principal del ensayo.** Aquí se responde a la pregunta: ¿Qué es lo que se espera resolver o establecer con el ensayo? En este apartado se deben especificar objetivos secundarios, hasta terciarios, cuando es el caso.
- (4) **Tipo de ensayo, diseño experimental y muestra.** En este apartado se indica la fase de investigación a la que corresponde, se presenta el diseño del estudio con una justificación explícita de su racionalidad, se describe el tamaño de la muestra requerida y los estimadores aplicados para su

cálculo, la constitución de grupos de tratamiento y su proceso de asignación, así como el procedimiento por seguir ante las posibles pérdidas de sujetos (o pacientes) antes o después de la constitución de los grupos de tratamiento.

- (5) **Selección de pacientes/sujetos.** Aquí se definen los criterios que se aplicarán para la inclusión exclusión de sujetos sanos o pacientes. Este apartado responde a la pregunta: ¿quién va a participar en el ensayo?
- (6) **Intervención o tratamiento.** Se describe en esta parte la intervención por practicar o los tratamientos objeto de estudio. En caso de ensayos terapéuticos con fármacos, deberá especificarse la formulación farmacéutica, la dosis, el intervalo y la vía de administración, así como la duración del tratamiento, los criterios para la modificación de pautas posológicas, los tratamientos concomitantes, a medicación de rescate (en caso de ineficacia, complicaciones u otras circunstancias previsibles), los mecanismos de valoración del cumplimiento, el mecanismo para proveerla al paciente, el responsable de preparar y distribuir los tratamientos y, si procede, las técnicas de enmascaramiento y simulación.
- (7) **Variables de evaluación.** En este apartado se definen las variables principales, las secundarias y los controles de seguridad. En concordancia con los objetivos, la variable principal sustenta el criterio de evaluación y variará según el tipo de intervención (por ejemplo: al valorar la eficacia de un fármaco para una indicación específica, se requiere establecer los criterios que

la definen). Es recomendable explicar por qué tales variables constituyen el medio más adecuado para evaluar los efectos o los cambios derivados de la intervención específica. También es conveniente describir los métodos y escalas de medida estandarizadas (valoraciones clínicas, pruebas de laboratorio y tests diversos), de modo que la naturaleza medible de las variables sea reproducible y de notable validez, a efecto de obtener resultados relevantes, objetivos y válidos (4). Si procede, se debe incluir la descripción de los métodos de diagnóstico complementarios~ el control de calidad de los procedimientos por realizar, el número y frecuencia de visitas médicas y cualquier otro aspecto de interés. Se complementa con la definición de criterios que pueden justificar la suspensión prematura del estudio, o bien, la retirada de un participante en el transcurso de la ejecución y los criterios para dar por finalizada la supervisión del paciente tras cumplir la etapa experimental.

- (8) **Plan general.** Describe la planificación temporal de actividades y desarrollo experimental del ensayo, desde la selección para incluir a los participantes hasta su finalización. Asimismo, indica la secuencias de valoración, el orden de pruebas, etc. (los diagramas son de utilidad para facilitar la comprensión de la propuesta).
- (9) **Análisis y procesamiento de datos.** En este apartado se proponen los cálculos pertinentes a las variables y a las pruebas estadísticas que se pretenden utilizar para el análisis de los resultados. Entre otros aspectos,

contempla la descripción de posibles análisis intermedios y la aproximación al análisis por "intención de tratar".

- (10) **Registro y comunicación de acontecimientos adversos.** Se refiere al sistema que se utilizará para documentar todo aspecto indeseable o adverso que pueda ocurrirle al sujeto o paciente durante el transcurso del ensayo, indistintamente que pueda atribuirse o no al tratamiento objeto de estudio (por ejemplo: formularios especiales tarjeta amarilla, etc.).
- (11) **Consideraciones prácticas.** Este apartado incluye la descripción de aspectos tales como: definición de responsabilidades de todos los colaboradores en el ensayo; las condiciones de archivo de los datos; las normas para el manejo y disposición de la medicación; la identificación, etiquetado y conservación de muestras; los suministros disponibles; las condiciones de publicación y los procedimientos de control respecto al cumplimiento del protocolo. También se deben describir las medidas operativas para garantizar la confidencialidad de los participantes.
- (12) **Aspectos éticos.** Es recomendable hacer énfasis en las consideraciones éticas generales que regirán el desarrollo del ensayo. Debe constar la adhesión práctica a las normativas nacionales —cuando existen— e internacionales (por ejemplo: la Declaración de Helsinki con sus enmiendas), la disposición de acoger la opinión de un Comité "independiente" que evaluará el protocolo, la intención de mantener la confidencialidad de la participación de los sujetos o pacientes; asimismo, una decla-

ración confirmatoria de que una negativa inicial a participar voluntariamente o un retiro prematuro, no conlleva menoscabo alguno en la atención médica del paciente. También, se describe la información que se ofrecerá a los posibles participantes, el formulario para el consentimiento informado, las pólizas de seguro ante los posibles riesgos, etc., si es pertinente se adjuntarán los documentos relacionados.

La consideración de estas recomendaciones y la relevancia de los contenidos en el momento de presentar un protocolo de investigación, reflejarán una comprensión y un dominio óptimo de la propuesta por parte del investigador y su equipo de colaboradores (1,2).

CALCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

Uno de los problemas más frecuentes ante cualquier intento de aproximación a la investigación clínica, radica en la dificultad de establecer el número adecuado de personas que se requieren para conformar los grupos experimentales, de modo que no resulte ni tan insuficiente para ofrecer algún resultado relevante, ni tan excesivo que requiera esfuerzos y riesgos innecesarios o exagerados.

Puesto que el cálculo del tamaño de la muestra (n) siempre ha de hacerse *a priori*, para una buena estimación deben tenerse en cuenta varios aspectos. Estos pueden obtenerse, por lo general, a partir de la información bibliográfica disponible tras la revisión teórica de la propuesta del ensayo; o bien, con un estudio piloto previo.

Para brindar una aproximación sencilla, pero útil que permita estimar el tamaño de la muestra en la etapa de

diseño de un ensayo clínico, se deben considerar y definir los puntos siguientes:

(1) Probabilidad alfa (α):

Define el nivel de tolerancia para el error tipo I. Representa la probabilidad de aceptar (dar por válida) la diferenciación entre los tratamientos cuando en realidad esta diferencia no existe, o bien, la de rechazar la hipótesis nula (H_0 de igualdad) verdadera, por cuanto señala el punto crítico para la toma ulterior de esa decisión.

El riesgo de incurrir en el error tipo I será bajo, a través del análisis, si se elige un nivel de tolerancia apropiado. De forma convencional, se establece $\alpha = 0.05$ (tras la aplicación de pruebas estadísticas adecuadas para la variable de interés, se rechaza la H_0 si $p < 0.05$).

(2) Probabilidad beta (β):

Representa el nivel de tolerancia para el error tipo II. Señala la probabilidad de aceptar la ausencia de una diferenciación significativa cuando en realidad esta diferencia sí existe; es decir, la de no rechazar la hipótesis nula (H_0) falsa. Suele asignarse un valor $\beta = 0.05 - 0.2$ a efecto del cálculo de áreas. Sin embargo, como sólo se puede asumir el control de este error en la etapa de diseño, resulta más importante su derivación conceptual inmediata.

(3) Potencia (o poder) de la prueba:

En realidad, ofrece un sustento (en términos positivos) para el diseño experimental, pues estima la probabilidad de detectar la diferencia cuando realmente sí existe. Esta "intención de certeza" se establece por medio de la

expresión $(1 - \beta)$, y suele ser de 0.80, 0.90 ó 0.95. Es frecuente su expresión en forma porcentual (80-95%).

(4) Presunción de diferencia (d):

Representa la discordancia que se espera obtener entre los grupos de tratamiento, respecto de la variable principal. Es aquí donde se debe aplicar el máximo de modestia, por cuanto representa la expectativa de cambio que se espera con la nueva intervención o tratamiento. Este valor se estima a partir de la información disponible, con énfasis en ensayos clínicos previos que aplicaron variables e intervenciones similares.

A fin de evitar subestimaciones muestrales, se considera razonable una expectativa de reconocer una diferencia mayor a un 10%, pero no más del 20%, de cualquier valor encontrado como referencia.

(5) La desviación estándar (DE):

Es la clásica medida de dispersión que suele presentarse al informar resultados. Es posible disponer de otros descriptores como son la varianza, el coeficiente de variación o el error estándar de la media aritmética, pero su utilización requiere cálculos aritméticos para estimar la desviación. El valor de la DE se puede obtener a partir de trabajos previos y es inherente a cada variable en particular (5-8).

De antemano, y de acuerdo con la propuesta que fundamenta el estudio, deberá definirse si la evaluación de la H_0 se hará en forma unilateral o bilateral. Esto es necesario debido a que el tamaño de la muestra estará sujeto a variación por esta causa y, además, en una etapa ulterior se reflejará en los valores críticos para la toma de decisión: aceptar o rechazar la H_0 (8,9).

Una fórmula general que resulta útil para estimar el tamaño de la muestra en un ensayo cruzado, o el tamaño de cada grupo muestral para uno diseñado en paralelo, es la siguiente (2,9):

$$n \geq 2 (Z_{2\alpha} + Z_{\beta})^2 \cdot \frac{DE^2}{d^2}$$

donde (n) representa el número de sujetos requerido, (Z) hace referencia al valor crítico de decisión determinado por el área de (α) y (β) , (DE) se refiere a la desviación y (d) corresponde a la presunción de diferencia (Tabla 1).

Conviene recordar que a mayor poder de la prueba estadística y con el fin de disminuir el riesgo de cometer errores tipo I y II, siempre resulta más grande el número de sujetos requeridos. Sin embargo, también aumenta cuando la diferencia en los resultados de la variable principal entre los grupos es de poca magnitud (2,6,8,9).

Con el fin de facilitar la estimación de los tamaños muestrales se han diseñado nomogramas (6). Además, se dispone de programas de aplicación específica, como el programa "n" ® (10). También los hay de aplicación más general, como el Epi Info, útil para cálculos epidemiológicos (11).

INFORMACION DE RESULTADOS

Después de llevar a cabo la fase experimental y el análisis de los resultados, conviene aclarar que "las conclusiones pueden resultar sospechosas o de poca fiabilidad, a menos que se ofrezca una buena descripción de la metodología" en el momento de informar un estudio (11).

Por lo tanto, todo informe preparado a partir de un ensayo clínico debería proporcionar una serie de información básica que se describe en

un apartado disponible específicamente para ello (el de procedimientos o métodos). Al respecto es pertinente especificar:

- (1) El diseño del ensayo.
- (2) El método para realizar la asignación de los pacientes y de los tratamientos.
- (3) Las pruebas de que la asignación fue aleatoria cuando es procedente (para ensayos paralelos es frecuente la preparación de tablas que describen la homogenización de las características de los grupos).
- (4) Los valores de α , de la potencia de la prueba ($1-\beta$) y de la diferencia esperada para la determinación del tamaño de la muestra, es decir, la justificación del tamaño de la muestra.

Además, debe indicarse el carácter abierto o ciego del estudio con referencia al paciente, la persona que administra el tratamiento, la que lleva a cabo las evaluaciones y, si procede, al monitor (controlador o supervisor del estudio). Asimismo, mencionar el procedimiento de datos (empleo de paquetes estadísticos), la aplicación de pruebas para el análisis estadístico (comparaciones y asociaciones entre variables), y los criterios para una correcta interpretación ulterior (nivel de significación) (7,8,12).

Una vez obtenidos los resultados, aunque los más relevantes pueden referirse en el texto, la mayoría (o todos) deben reorganizarse y presentarse en forma de tablas o gráficas (que los exhiben gráficamente). Si bien la media aritmética (promedio) es un descriptor de tendencia central muy útil en estadística descriptiva (la mediana o la moda para variables discretas y cualitativas), su presentación debe completarse con una indicación de la variabilidad, en vez de presentarla como expresión única de los resultados (13-15).

Se considera que la DE es adecuada para describir la dispersión (o variabilidad) de los resultados individuales en torno al valor medio, puesto que se obtiene a partir de la estimación de la varianza de una población de valores. Su utilidad deriva del principio que describe los intervalos definidos por esta desviación. Así, el ámbito que abarca una DE incluye al 90% de los miembros de la población, mientras que dos DE alcanzan al 95%, siempre que se trate de una distribución normal o razonablemente simétrica. Otros descriptores de la variabilidad son el error estándar de la media (expresión que describe la variabilidad de la distribución de la media, útil para estimar los intervalos de confianza), el rango (rank, señala los valores más extremos o más peculiares), y los centiles (percentiles, se aplican para dar valores con una frecuencia relativa acumulada específica) (13,14).

Otro aspecto por considerar, una vez que son conocidos los resultados, es la intención de generalizar, o más bien, la generalización de los hallazgos. El uso de sistemas de clasificación internacionalmente aceptados y la aplicación de una metodología de estudio aceptada como de validez científica son pre-requisitos básicos para derivar la posible generalización de los datos obtenidos de los ensayos clínicos. Sin embargo, ha de tenerse en cuenta las posibles diferencias de tipo étnico, las referidas a grupos de riesgo o subgrupos especiales de pacientes (por ejemplo: ancianos) y la motivación de los participantes (expectativa de beneficios directos o indirectos), así como las diferencias en la severidad de las enfermedades junto con la condición de paciente hospitalizado/ambulatorio, pues, todos estos son factores que pueden explicar la diversidad y hasta incongruencia de algunos resultados (16, 17).

CONSIDERACIONES ETICAS

El plan y el desarrollo de todo ensayo clínico deberán formularse claramente en un protocolo experimental que se presentará para su evaluación global, a un comité independiente constituido al efecto.

Todos los pacientes, o los sujetos sanos, que participen en la realización de los ensayos clínicos deberán, ante todo, ser informados de los objetivos, los métodos, las ventajas previstas y los posibles riesgos inherentes a su participación. A continuación, se consignará el consentimiento informado (preferiblemente por escrito). Las normativas internacionales recomiendan informar al sujeto respecto a su derecho de abstenerse de participar en el estudio y de retirar su consentimiento de participación en cualquier momento, muy a pesar de lo razonable que resulta pretender que todas las personas incluidas completen el estudio, una vez iniciado.

Los protocolos de investigación deben contener un apartado que indique explícitamente las condiciones éticas generales relacionadas con el ensayo. En muchos países la legislación obliga a incluir documentos relativos a la información que se brindará a los pacientes o voluntarios sanos, así como a describir cómo su consentimiento será obtenido (adjuntar formulario para "consentimiento informado"); pero, a falta de tal extremo legal, es conveniente hacerlo para evitar "malos entendidos".

Asimismo, deben especificarse las posibles razones para no documentar el consentimiento (menores de edad, enfermos psiquiátricos o pacientes en estado de inconciencia). En tales circunstancias, el consentimiento deberá ser obtenido de una tercera persona, habitualmente un familiar legalmente responsable del paciente (18, 19).

Puesto que todos los pacientes tienen derecho al manejo terapéutico de su enfermedad cuando se dispone de un tratamiento estándar; para demostrar la eficacia de un nuevo agente no siempre es conveniente, posible, o hasta recomendable, la comparación con placebo en un ensayo controlado. Al margen de disponer o no del consentimiento informado, NO es ético asignar placebo a los pacientes cuando se dispone de una terapéutica eficaz para el tratamiento de la enfermedad o condición objeto de estudio (18, 20). A pesar de esto, se publican informes de ensayos clínicos controlados con placebo llevados a cabo con pacientes con diagnóstico de artritis reumatoidea, hipertensión arterial, depresión severa, insuficiencia cardíaca y emesis secundaria a antineoplásicos (20, 21).

En ocasiones surgen dificultades para lograr la participación voluntaria de pacientes en evaluaciones experimentales, sobretodo cuando se dispone de alternativas terapéuticas eficaces. Sin embargo, la dificultad puede ser aún mayor ante la situación contraria, es decir, precisamente por la falta de una terapéutica eficaz con la cual comparar cualquier nuevo fármaco. Por ejemplo, en el proceso de evaluación de la terapia del SIDA se ha dado el caso de que los pacientes prefieren integrar el grupo que recibe el fármaco en estudio en vez de placebo, como un intento de alcanzar mejores expectativas a su condición (22).

CONCLUSION

Los ensayos clínicos se aplican tanto a la evaluación de fármacos o compuestos farmacológicos en fase de investigación, como a la evaluación objetiva y sistemática de procedimientos y aparatos de utilidad médica.

En general, las investigaciones deberán llevarse a cabo con grupos control para proceder con las comparaciones, pero no siempre es posible, o ético, la disposición de grupos expuestos a placebo como referencia; la comparación con la terapéutica establecida como eficaz constituye una alternativa por tener en cuenta.

Finalmente, si los ensayos clínicos constituyen el medio para el avance objetivo, racional y ético que tiene la ciencia médica, todo aquel proyecto de investigación que carezca de un posible aporte científico, que exponga a los pacientes (o sujetos sanos) a un riesgo excesivo, que no sea acertado en el diseño y la valoración de variables o su análisis, o cuyos

procedimientos o resultados no procuren una contribución al avance médico, terapéutico o científico, resultan éticamente injustificados y lógicamente inaceptables para ser promocionados por investigadores e instituciones.

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. F. Jané Carrenca, Jefe del Servicio de Farmacología Clínica, por sus oportunos comentarios y correcciones al borrador de este manuscrito; a la señorita M^a A. Funes por la asistencia ofimática en las versiones intermedias y final, así como a todo el equipo de colaboradores del Area de Investigación Farmacológica, Instituto de Investigación del HSCSP.

TABLA 1. VALORES PARA LA EXPRESION
 $(Z_{2\alpha} + Z_{\beta})^2$ (2, 23, 24)

Prueba H_0 bilateral

α \ β	0.20	0.10	0.05
0.05	7.849	10.511	12.996
0.01	11.679	14.884	17.817

Prueba H_0 unilateral*

α \ β	0.20	0.10	0.05
0.05	6.18	8.567	10.824
0.01	10.03	13.018	15.769

* Los valores necesarios para una prueba de H_0 unilateral con una $\alpha = 0.025$ corresponden a los indicados para $\alpha = 0.05$ bilateral.

ABSTRACT

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

In the first part we reviewed some aspects of the different phases in clinical research, experimental design and

methodology. In this part, observations are provided with regard to elaborating research protocols and their different parts, principles for estimating sample size, and some aspects when results of a scientific trial are given.

Finally, we offer a general approach to the ethical considerations for suitable development of human clinical trials.

REFERENCIAS

1. Pocock S: *Clinical Trials*. Avon: 1989, The Bath Press, 372 pp.
2. Shuster JJ: Design and analysis of randomized clinical trials. En: *Handbook of sample size guidelines for clinical trials*. Boca Ratón: 1990, CRC Press Inc, 9-49.
3. Ministerio de Sanidad y Consumo: RD561/1993 Real Decreto sobre los requisitos para ensayos clínicos con medicamentos. *Boletín Oficial del Estado* 1993; 114 (13 de mayo): 14346-64.
4. Shah V, Midha KK, Dighe S, McGilveray IJ et al: Analytical methods validation: Bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. *Eur J Drug Metab Pharmacokin* 1991; 16:249-55-
5. Stolley P, Strom BL: Sample size calculation for clinical pharmacology studies. *Clin Pharmacol Ther* 1986; 39:489-90.
6. Day SJ, Graham DF: Sample size and power for comparing two or more treatment groups in clinical trials. *Br Med J* 1989; 299: 663-5.
7. Murray GD: Aspectos estadísticos de la metodología de la investigación. *Br J Surg* (ed. esp.) 1991; 78: 777-81.
8. Dupont W, Plummer W: Power and sample size calculations. *Controlled Clin Trials* 1990; 11. 116-28.
9. Armitage P, Berry C. Planificación de las investigaciones estadísticas. En: *Estadística para la investigación biomédica*. Barcelona: 1992, Ed. Doyma, 187-216.
10. Glaxo, Unidad de Estadística: *n, ENE, Programa de cálculo del tamaño muestral en diseños de investigación*, versión 2.1 Madrid: 1993, GLAXO S.A.
11. Dean AG, Dean JA, Burton AH, Dicker RC. *Epi Info, version 5: a word processing, database, and statistics program for epidemiology on microcomputers*. Stone Mountain: 1990, USD Incorporated.
12. Altman D, Dore C: Asignación al azar y comparaciones de las basales en los ensayos clínicos. *Lancet* (ed. esp.) 1990; 1:149-53.

13. More DS: Organizing dat. En: Statistics, Concepts and controversies (second edition). New York: 1985, WH Freeman & Company, 141-258.
14. Altman D: *Practical statistcs for medical research*. London: 1991, Chapman & Hall Press, 611 pp.
15. Senn S. Graphical and tabular presentation of cross-over trials. En: *Cross-over trials in clinical research*. Chichester: 1993, John Wiley & Sons, 183-94.
16. Anseau M: The Atlantic gap: clinical trials in Europe and the United States. *Biol Psychiatry* 1992; 31: 109-11.
17. Kern U: Problems of generalization of findings. Regulatory attitudes. *Eur Phychiatry* 1994; 143-4.
18. Declaración de Helsinki: *Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects*, adopted by the XVIII World Medical Assembly, Helsinki, June 1964, amended by the XXIX World Medical Assembly, Tokio October 1975, amended by the XXXV World Medical Assembly, Venice, October 1983, an the XLI World Medical Assembly, Hong Kong, September 1989.
19. Commission of the European Communities (CEC): Good Clinical Practice for Trials on Medicinal Products In the European Community (The Rules Governing Medicinal products In the European Community I, 1989). *Pharmacol Toxicol* 1990; 361 -72.
20. Rothman KJ, Michels KB: The continuing unethical use of placebo controls. *N Eng J Med* 1994; 331:394-8.
21. Citron ML: Placebos and principles: a trial of ondasetron. *Ann Intern Med* 1993; 118: 470-1.
22. Veatch R: Drug research in humans: The ethics of nonrandomized access. *Clin Pharm* 1989; 8: 366-70.
23. Doménech JM: *Tablas de estadística*. Barcelona: 1988, Ed.Hender, 40-1.
24. Carné X, Moreno V, Porta Serra M, Velilla E: El cálculo del número de pacientes necesarios en la planificación de un estudio clínico. *Med Clin (Barc)* 1989; 92: 72-7.