

ΧΡΗΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΩΝ ΣΤΗΝ ΕΡΕΥΝΑ

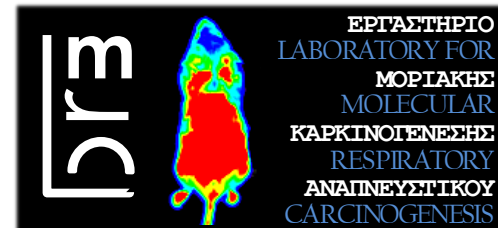
Οργάνωση Πραγματικού Πειράματος

Μάγδα Σπέλλα PhD

Μετα-διδακτορική ερευνήτρια, Εργαστήριο Φυσιολογίας,
Εργαστήριο Μοριακής Καρκινογένεσης Αναπνευστικού,
Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Πατρών, Ρίο, Ελλάς



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ
UNIVERSITY OF PATRAS





ΑΡΧΙΚΗ ΙΔΕΑ ΠΟΥ ΟΔΗΓΕΙ ΣΤΟ ΠΕΙΡΑΜΑ (ΥΠΟΘΕΣΗ)



Έρευνα που καθοδηγείται από διαθέσιμα εργαλεία

«Ποντικοί ενδεείς στο γονίδιο της οστεοποντίνης θα είναι ανθεκτικοί στη χημική καρκινογένεση πνεύμονα»

Έρευνα που καθοδηγείται από υπόθεση

«Η οστεοποντίνη προάγει την καρκινογένεση πνεύμονα»

Εξειδίκευση υπόθεσης σε ειδικούς στόχους

1. Η μελέτη του ρόλου της οστεοποντίνης στη χημική καρκινογένεση πνεύμονα που επάγεται από ουρεθάνη
2. Η μελέτη του ρόλου της οστεοποντίνης στη χημική καρκινογένεση πνεύμονα που επάγεται από μεθυλχολανθρένη/βουτυλιωμένο υδροξυτολουένιο
3. Η μελέτη του ρόλου της οστεοποντίνης στη γενετική καρκινογένεση πνεύμονα που επάγεται από έκφραση μεταλλαγμένου *Kras* στο αναπνευστικό επιθήλιο



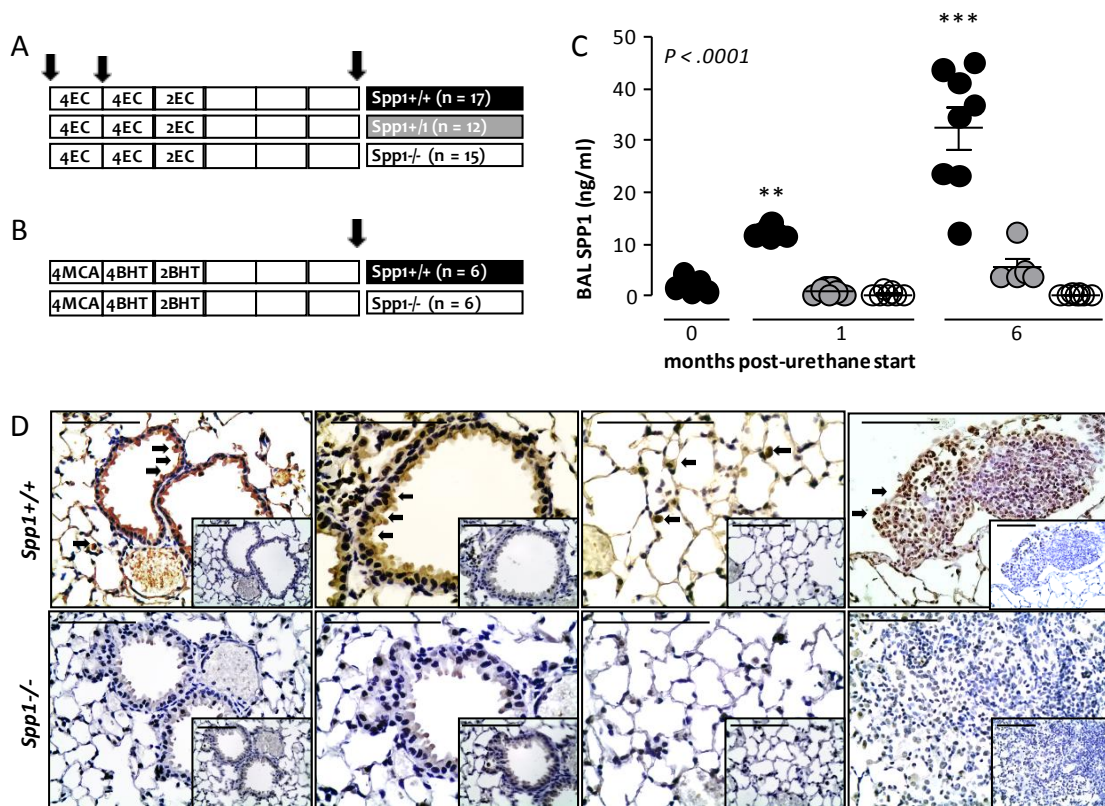
ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΕΠΙΤΥΧΗΜΕΝΗΣ ΥΠΟΘΕΣΗΣ

Να μπορεί να απορριφθεί (μηδενική υπόθεση)

«Η οστεοποντίνη δεν παίζει ρόλο στην καρκινογένεση πνεύμονα»

Να βασίζεται σε προκαταρκτικά δεδομένα

Βιβλιογραφία, Παρατηρήσεις από προηγούμενα πειράματα





ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Πρώτο αυτό που με μεγαλύτερη βεβαιότητα θα οδηγήσει σε απόρριψη της μηδενικής υπόθεσης (έννοια βιολογικού αποτελέσματος ρ)

Ποντικοί ενδεείς οστεοποντίνης (*Spp1*^{-/-})

Anti-*Spp1* shRNA

Anti-SPP1 εξουδετερωτικά αντισώματα

Επιλογή πειραματικής διάταξης

Μπορεί η υπόθεση να απορριφθεί με *in vitro* πειράματα (αντικατάσταση);

Προσαρμογή πειραματικής διάταξης στα δεδομένα του πειράματος

Επαγωγή χημικής καρκινογένεσης πνεύμονα με ουρεθάνη σε ποντικούς C57BL/6

Σωστή επιλογή μαρτύρων (control)

A priori καθορισμός σημείων τελικής έκβασης

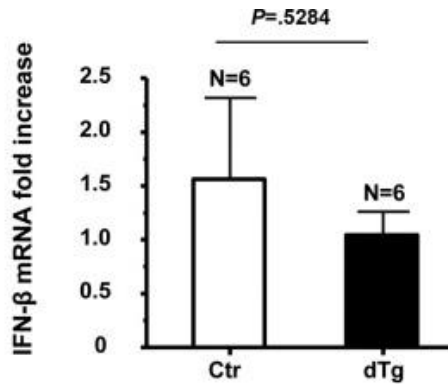
1 πρωτεύον (αριθμός και μέγεθος όγκων)

> 1 δευτερεύοντα (μελέτη φλεγμονής, ανάλυση κυτταροκινών στο αίμα κλπ)

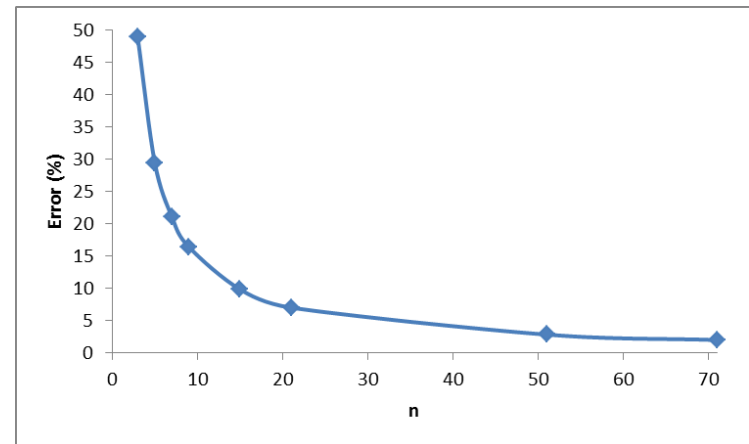
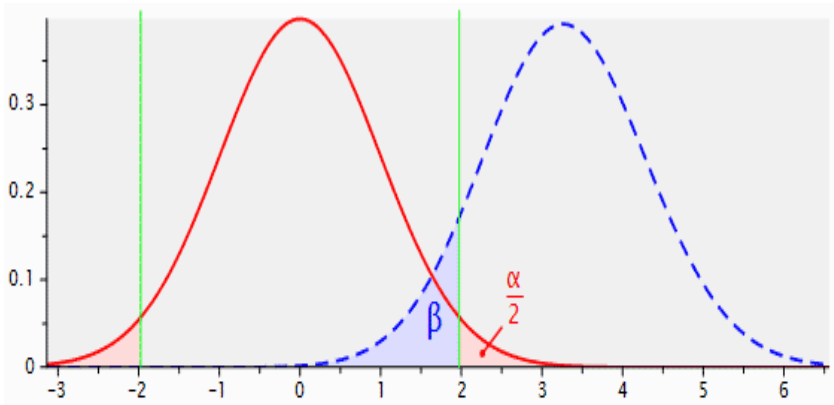
↓	↓	↓				Spp1^{+/+} (n = 17)
4EC	4EC	2EC				Spp1 ^{+/+} (n = 12)
4EC	4EC	2EC				Spp1 ^{-/-} (n = 15)



ΑΝΑΛΥΣΗ ΙΣΧΥΟΣ (ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΩΝ)



Decision	H_0 is really true i.e., there is really no effect to find	H_0 is really false i.e., there really is an effect to be found
Retain H_0	correct decision: prob = $1 - \alpha$	Type II error: prob = β
Reject H_0	Type I error: prob = α	correct decision: prob = $1 - \beta$



<http://www.psych.uni-duesseldorf.de/abteilungen/aap/gpower3/>
 $\alpha, \beta = 0,2, \rho = 0,5: n = 23$



ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

A priori προσδιορισμός στατιστικής δοκιμασίας

t-test, Mann-Whittney u-test

ANOVA, Kruskal-Wallis non-parametric test

2-Way ANOVA

A priori προσδιορισμός στατιστικής ισχύος/αριθμού ομάδων

n (ελάττωση)

Τυχαιοποίηση

φύλλο

ηλικία

ομοσταλισμός

σωματικό βάρος

Διασπορά στο χρόνο

Κατάτμηση πειραμάτων τύπου «σάντουιτς»

n = 15, 2 ομάδες

Καλύτερα 3 επάλληλα πειράματα n = 5, 2 ομάδες



CMB	males	3/8/2009	<i>opn+/+</i>
			<i>opn+/+</i>
			<i>opn+/+</i>
			<i>opn+/+</i>
			<i>opn+/+</i>
CMC	males	12/8/2009	<i>opn-/-</i>
			<i>opn-/-</i>
			<i>opn-/-</i>
			<i>opn-/-</i>
			<i>opn-/-</i>
CMD	females	25/8/2009	<i>opn+/+</i>
			<i>opn+/+</i>
			<i>opn+/+</i>
			<i>opn+/+</i>
			<i>opn+/+</i>
CME	males	7/7/2009	<i>opn-/-</i>
			<i>opn-/-</i>
CMF	females	28/7/2009	<i>opn-/-</i>
			<i>opn-/-</i>
			<i>opn-/-</i>

CMB	males	3/8/2009	<i>opn+/+</i>
			<i>opn-/-</i>
			<i>opn+/+</i>
			<i>opn-/-</i>
			<i>opn+/+</i>
CMC	males	12/8/2009	<i>opn-/-</i>
			<i>opn+/+</i>
			<i>opn-/-</i>
			<i>opn+/+</i>
			<i>opn-/-</i>
CMD	females	25/8/2009	<i>opn+/+</i>
			<i>opn-/-</i>
			<i>opn+/+</i>
			<i>opn-/-</i>
			<i>opn+/+</i>
CME	males	7/7/2009	<i>opn-/-</i>
			<i>opn+/+</i>
CMF	females	28/7/2009	<i>opn-/-</i>
			<i>opn+/+</i>
			<i>opn-/-</i>



ΒΙΟΗΘΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Πρόληψη πόνου, αγωνίας (εκλεπτυσμός)

αναλγητικά

έγκαιρη ευθανασία

Συγγραφή ερευνητικού πρωτοκόλλου

Έγκριση από αρμόδιες αρχές εκ των προτέρων

Εκπαίδευση και πιστοποίηση προσωπικού

βιοηθική κατάρτιση

επιστημονική κατάρτιση

τεχνική κατάρτιση

Επαγρύπνηση

Υγεία πειραματοζώων

Προσήλωση σε πρωτόκολλα

Προσωπικό



ΕΚΤΕΛΕΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Χορήγηση παρέμβασης

Ίδια παρτίδα π.χ. καρκινογόνου

Ίδιος χειριστής (τυφλός ως προς γονότυπο)

Κατανομή παρεμβάσεων στο χρόνο

Παρακολούθηση

Ευθανασία επί πρόωρης αγωνίας/πόνου

Λήξη πειράματος

Ίδιος χειριστής (τυφλός ως προς παρέμβαση)

Εκτίμηση σημείων τελικής έκβασης

Πολλαπλοί χειριστές (τυφλοί)

Τεκμηρίωση αποτελεσμάτων (απεικόνιση)



ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Βιβλιογραφική τεκμηρίωση υπόθεσης

Με λογική αλληλουχία οδηγεί τον αναγνώστη στη διαπίστωση της αναγκαιότητας του πειράματος

Προκαταρκτικά δεδομένα

Σύνδεση πειράματος με προηγούμενη ερευνητική γραμμή ερευνητικής ομάδας

Παρουσίαση δεδομένων

Εικόνες

Κατάλληλα γραφήματα

Επιλογή παραμέτρων (θέσης, διασποράς)

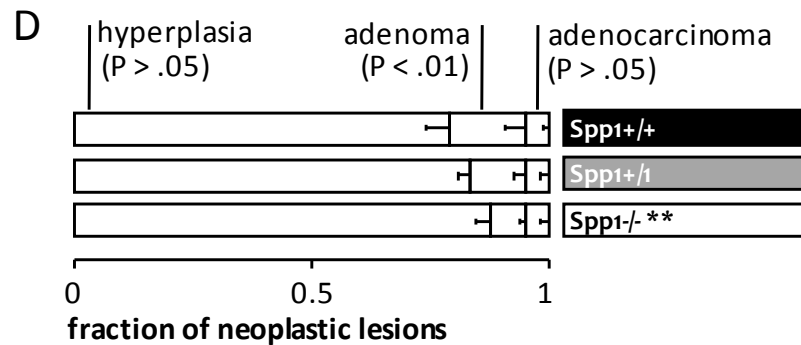
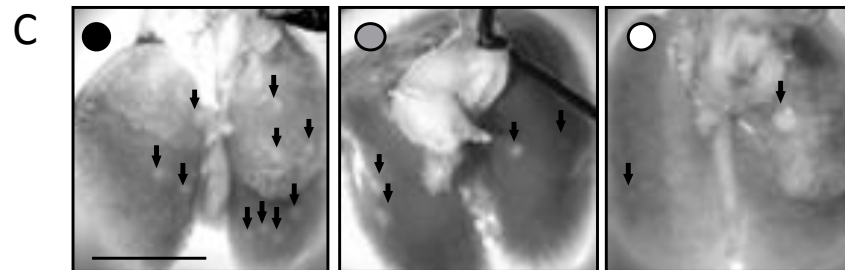
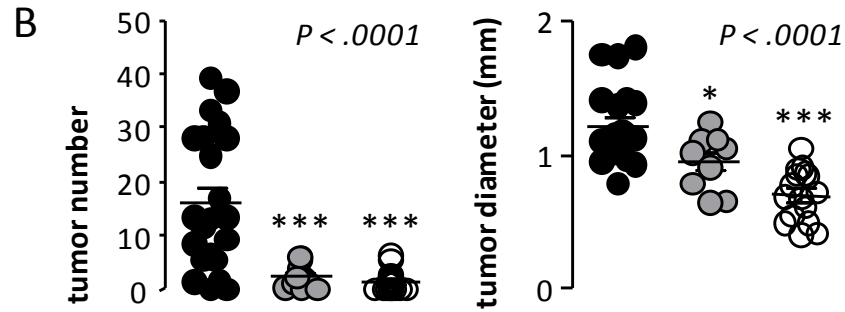
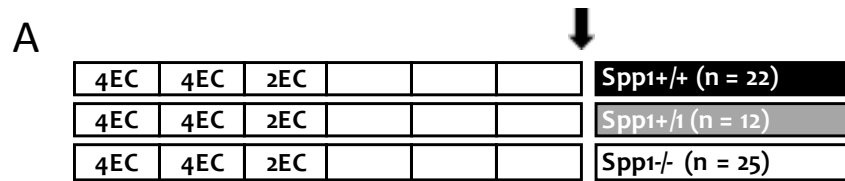
Ομοιομορφία

Άρτια ανάλυση

Βιοηθική ανάλυσης /παρουσίασης δεδομένων

Άξονες

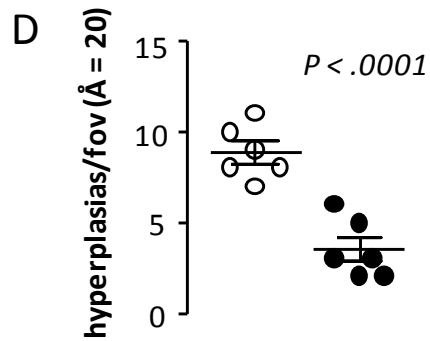
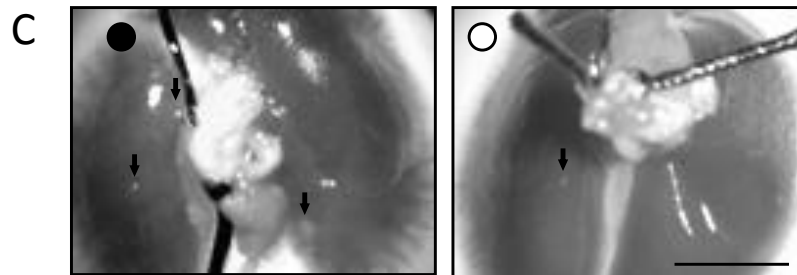
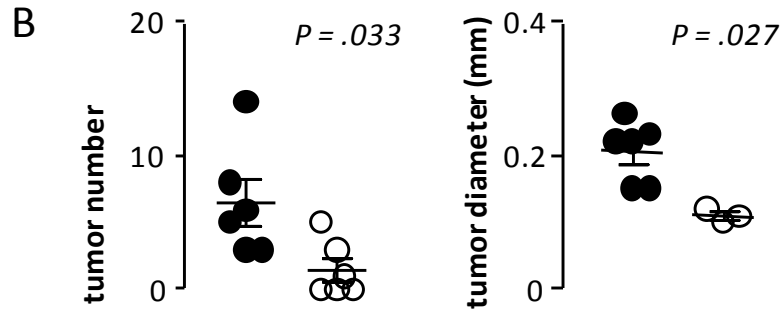
Χειρισμός εικόνων





↓

4MCA	4BHT	2BHT				Spp1^{+/+} (n = 6)
4MCA	4BHT	2BHT				Spp1 ^{-/-} (n = 6)





ΕΠΙΛΟΓΟΣ

Το πείραμα θα αναπαραχθεί από εσάς ή άλλους

Αναπαραγώγιμο

Βεβαιότητα αποτελεσμάτων

Στο πείραμα αυτό θα στηριχθείτε για το σχεδιασμό άλλων πειραμάτων και όλης σας της ερευνητικής σταδιοδρομίας

Τα αποτελέσματά σας θα κριθούν από χιλιάδες άλλους μετά τη δημοσίευσή τους

Απήχηση

Αναφορές

Το όνομά σας συνδέεται με την ποιότητα των πειραμάτων σας

Απόσυρση

Πλημελής ερευνητικός σχεδιασμός

Πλημελής βιοηθική