

Μεθοδολογία πειραματικής έρευνας

Δέσποινα Ν. Περρέα

Ομότιμη Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και

Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.Σ. Χρηστέας», Ιατρικής Σχολής, ΕΚΠΑ

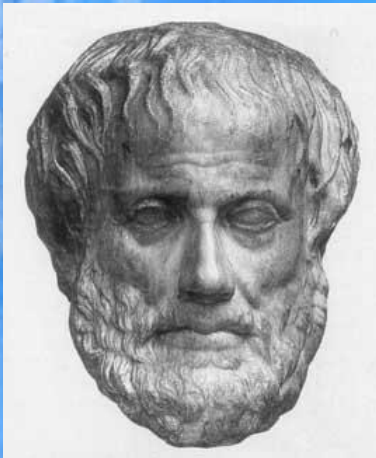
Πρώτη Χρήση Ζωϊκών Προτύπων

➤ **Αριστοτέλης (384-322 π.Χ.):**

Ανατομικές μελέτες

➤ **Ερίστρατος ο Αλεξανδρινός (304-257π.Χ.):**

Μελέτη της λειτουργίας της καρδιάς και της τραχείας σε χοίρους



ΒΡΑΒΕΙΑ NOBEL

1901: Von Behring

Αντιδιφθεριτικό ορό
(Ινδικά Χοιρίδια)

1905: Banding

Βακτηρίδιο της Φυματίωσης
(Αγελάδες και πρόβατα)

1945: Fleming

Ινσουλίνη (Σκύλους)

1964: Bloch

Πενικιλίνη (Ποντίκια)

2009: Elizabeth H. Blackburn

Carol W. Greider and Jack W. Szostak

Προστασία των χρωμοσωμάτων από τα τελομερή και την
τελομεράση (Mouse, Frog)

<u>Serum therapy, especially in its application against diphtheria.</u>	1901	Emil von Behring	Rat, Rabbit, Guinea pig, Cow, Horse
<u>Research on malaria</u>	1902	Ronald Ross	Pigeon, Other or unspecified birds, Other invertebrate
<u>The physiology of digestion</u>	1904	Ivan Pavlov	Dog
<u>Transmission and treatment of tuberculosis</u>	1905	Robert Koch	Mouse, Rat, Guinea pig
<u>The structure of the nervous system</u>	1906	Camillio Golgi, Santiago Ramón y Cajal	Mouse, Rabbit, Cat, Dog, Other or unspecified birds, Reptiles
<u>The role played by protozoa in causing disease</u>	1907	Alphonse Laveran	Mouse, Rat, Dog, Pig, Cow, Horse, Primates, Other or unspecified birds, Reptiles, Other fish
<u>Immunity in infectious diseases</u>	1908	Ilya Mechnikov, Paul Ehrlich	Mouse, Guinea pig, Primates, Other or unspecified birds, Other invertebrate
<u>Cell chemistry and the contents of the nucleus</u>	1910	Albrecht Kossel	Other or unspecified rodents, Guinea pig, Other or unspecified birds
<u>Suture of blood vessels</u>	1912	Alexis Carrel	Rabbit, Cat, Dog
<u>Discovery of anaphylaxis</u>	1913	Charles Richet	Guinea pig, Dog, Other invertebrate
<u>Discoveries relating to immunity</u>	1919	Jules Bordet	Rabbit, Guinea pig, Horse
<u>Capillary motor regulation</u>	1920	August Krogh	Rabbit, Guinea pig
<u>Metabolism and the production of heat in muscles</u>	1922	Archibald Hill, Otto Meyerhof	Frog
<u>The discovery of insulin</u>	1923	Frederick Banting, John MacLeod	Rabbit, Dog, Pig, Cow, Other fish
<u>The electrocardiogram</u>	1924	Willem Einthoven	Dog, Frog
<u>Discovery of the nematode Spiroptera carcinoma</u>	1926	Johannes Fibger	Rat, Nematode worm
			Mouse, Rat, Guinea pig, Other or unspecified birds, Reptiles, Other fish

<u>The importance of dietary vitamins</u>	1929	Christiaan Eijkman, Frederick Gowland Hopkins	Mouse, Rat, Chicken
<u>Electrical activity in neurons</u>	1932	Charles Sherrington, Edgar Adrian	Cat, Dog, Frog
<u>The role of chromosomes in heredity</u>	1933	Thomas Hunt Morgan	Drosophila (fruit fly)
<u>Treatment of pernicious anaemia</u>	1934	George Whipple, George Minot, William Murphy	Dog
<u>The 'organiser effect' in embryonic development</u>	1935	Hans Spemann	Frog, Other amphibians
<u>The discovery of neurotransmitters</u>	1936	Henry Dale, Otto Loewi	Cat, Frog
<u>Regulation of respiration</u>	1938	Corneille Jean Francois Heymans	Dog
<u>The discovery of the antibacterial agent Prontosil</u>	1939	Gerhard Domagk	Mouse, Rabbit, Guinea pig
<u>The discovery of vitamin K</u>	1943	Henrik Dam, Edward Doisy	Chicken
<u>The functions of single nerve fibres</u>	1944	Joseph Erlanger, Herbert Gasser	Cat, Frog
<u>The discovery of penicillin</u>	1945	Alexander Fleming, Ernst Chain, Howard Walter Florey	Mouse
<u>Production of mutations by x-rays</u>	1946	Hermann Muller	Drosophila (fruit fly)
<u>The metabolism of carbohydrates</u>	1947	Gerti Cori, Carl Cori, Bernardo Houssay	Rat, Rabbit, Dog, Frog, Other amphibians
<u>The discovery of DDT</u>	1948	Paul Muller	Other invertebrate
<u>Organisation of the brain and surgical treatment of psychosis</u>	1949	Walter Rudolph Hess, Egas Moniz	Cat
<u>Structure and function of adrenal hormones</u>	1950	Edward Kendall, Tadeus Reichstein, Philip Hench	Rat
<u>Yellow fever vaccine</u>	1951	Max Theiler	Mouse, Primates, Chicken
<u>The discovery of streptomycin</u>	1952	Selman Waksman	Mouse, Guinea pig, Chicken
<u>The citric acid cycle</u>	1953	Hans Krebs, Fritz Lipmann	Pigeon

<u>The development of drugs that block the action of biological amines</u>	1957	Daniel Bovet	Rabbit, Dog
<u>The discovery of acquired immunological tolerance</u>	1960	Frank Burnet, Peter Medawar	Mouse, Cow
<u>The mechanics of the inner ear</u>	1961	Georg von Békésy	Guinea pig, Other or unspecified mammals (non-rodent/non-primate), Frog
<u>The generation of action potential in nerves</u>	1963	John Eccles, Alan Hodgkin, Andrew Huxley	Squid
<u>The metabolism of fatty acids and regulation of cholesterol</u>	1964	Konrad Bloch, Feodor Lynen	Rat
<u>Causes and treatment of tumours</u>	1966	Peyton Rous, Charles Huggins	Rat, Rabbit, Dog, Chicken
<u>The physiology of vision</u>	1967	Haldan Hartline, George Wald, Ragnar Granit	Rat, Guinea pig, Cat, Crustaceans, Frog, Reptiles
<u>The role of the genetic code in protein synthesis</u>	1968	Robert Holley, Marshall Nirenburg, Gobind Khorana	Rat, Guinea pig, Frog
<u>The storage, release and inactivation of neurotransmitters from nerve endings</u>	1970	Bernard Katz, Ulf von Euler, Julius Axelrod	Mouse, Rat, Rabbit, Cat, Dog, Cow
<u>The mechanism of hormone action</u>	1971	Earl Sutherland	Rat, Rabbit, Dog, Other or unspecified birds
<u>Chemical structure of antibodies</u>	1972	Rodney Porter, Gerald Edelman	Rat, Guinea pig, Goat
<u>Organisation of social behaviour patterns</u>	1973	Konrad Lorenz, Nikolaas Tinbergen, Karl von Frisch	Chicken, Other or unspecified birds, Other invertebrate
<u>The structural and functional organisation of cells</u>	1974	Albert Claude, George Palade, Christian de Duve	Mouse, Rat, Guinea pig
<u>Interactions between tumour-viruses and genetic components of the cell</u>	1975	Renato Dulbecco, Howard Temin, David Baltimore	Mouse, Horse, Primates, Chicken
<u>New principles governing the</u>		Carlton Gadjusek, Baruch	

<u>The CAT scan</u>	1979	Godfrey Hounsfield, Allan Cormack	Pig
<u>Identification of histocompatibility antigens and mechanism of action</u>	1980	Baruj Benacerraf, Jean Dausset, George D. Snell	Mouse, Guinea pig
<u>Processing of visual information by the brain</u>	1981	Roger W. Sperry, David H. Hubel, Torsten N. Wiesel	Cat, Primates
<u>Discovery of prostaglandins</u>	1982	Bengt I. Samuelsson, John R. Vane, Sune K. Bergstrom	Rabbit, Guinea pig, Sheep
<u>Techniques of monoclonal antibody formation</u>	1984	Niels K. Jerne, Georges J.F. Kohler, Cesar Milstein	Mouse, Rat
<u>Discoveries concerning the regulation of cholesterol metabolism</u>	1985	Michael S. Brown, Joseph L. Goldstein	Rat, Rabbit, Cow
<u>Nerve growth factor and epidermal growth factor</u>	1986	Rita Levi-Montalcini, Stanley Cohen	Mouse, Other or unspecified mammals (non-rodent/non-primate), Chicken
<u>Discovery of genetic principle for generation of antibody diversity</u>	1987	Susumu Tonegawa	Mouse
<u>Principles for drug treatment</u>	1988	Sir James W. Black, Gertude B. Elion, George H. Hitchings	Rat, Guinea pig, Cat, Dog
<u>Cellular origin of retroviral oncogenes</u>	1989	J. Michael Bishop, Harold E. Varmus	Chicken
<u>Organ transplantation techniques</u>	1990	Joseph E. Murray, E. Donnall Thomas	Mouse, Rabbit, Dog
<u>Recording from membrane ion channels (patch clamp)</u>	1991	Erwin Neher, Bert Sakmann	Rat, Frog
<u>Regulatory mechanism in cells</u>	1992	Edmond H. Fischer, Edwin G. Krebs	Mouse, Rabbit
<u>Discoveries of split genes</u>	1993	Richard J. Roberts, Phillip A. Sharp	Mouse, Rat
<u>Discovery of G-proteins and the</u>			

Nitric oxide as a signalling molecule in the cardiovascular system	1998	Robert Furchgott, Louis Ignarro & Ferid Murad	Rat, Rabbit
Discovery of signal peptides	1999	Günter Blobel	Mouse, Rat, Rabbit, Dog
Signal transduction in the nervous system	2000	Eric, Kandel, Paul Greengard, Arvid Carlsson	Mouse, Rat, Rabbit, Guinea pig, Snails
Regulators of the cell cycle	2001	Leland Hartwell, Timothy Hunt, Paul Nurse	Other invertebrate
Genetic regulation of development and programmed cell death	2002	John Sulston, Robert Horvitz, Sydney Brenner	Nematode worm
MRI	2003	Peter Mansfield, Paul Lauterbur	Rat
Odour receptors and the organisation of the olfactory system	2004	Richard Axel, Linda Buck	Mouse, Rat, Drosophila (fruit fly)
Discovery of H. pylori and its role in gastric and peptic ulcer disease	2005	Barry Marshall, Robin Warren	Gerbil, Pig
RNA interference	2006	Andrew Fire, Craig Mello	Nematode worm
Knockout mice & gene targeting	2007	Mario Capecchi, Martin Evans, Oliver Smithies	Mouse (knockout/GM)
The role of HPV and HIV in causing disease	2008	Harald zur Hausen, Françoise Barré-Sinoussi, Luc Montagnier	Mouse, Mouse (nude), Sheep, Horse, Goat
Chromosome protection by telomeres and telomerase	2009	Elizabeth H. Blackburn, Carol W. Greider and Jack W. Szostak	Mouse, Frog
The development of in vitro fertilization	2010	Robert G. Edwards	Mouse
Discoveries around innate and adaptive immunity	2011	Jules Hoffman, Bruce Beutler and Ralph Steinmann	Mouse, Drosophila (fruit fly)

Πειραματική Έρευνα

- Χρησιμοποιούνται κάθε χρόνο 50-100 εκ. ζωικά πρότυπα παγκοσμίως για ερευνητικούς σκοπούς.
- 10-11 εκ. στην Ευρωπαϊκή Ένωση
- 23-25 εκ. στις Η.Π.Α.

Κυριότεροι τομείς

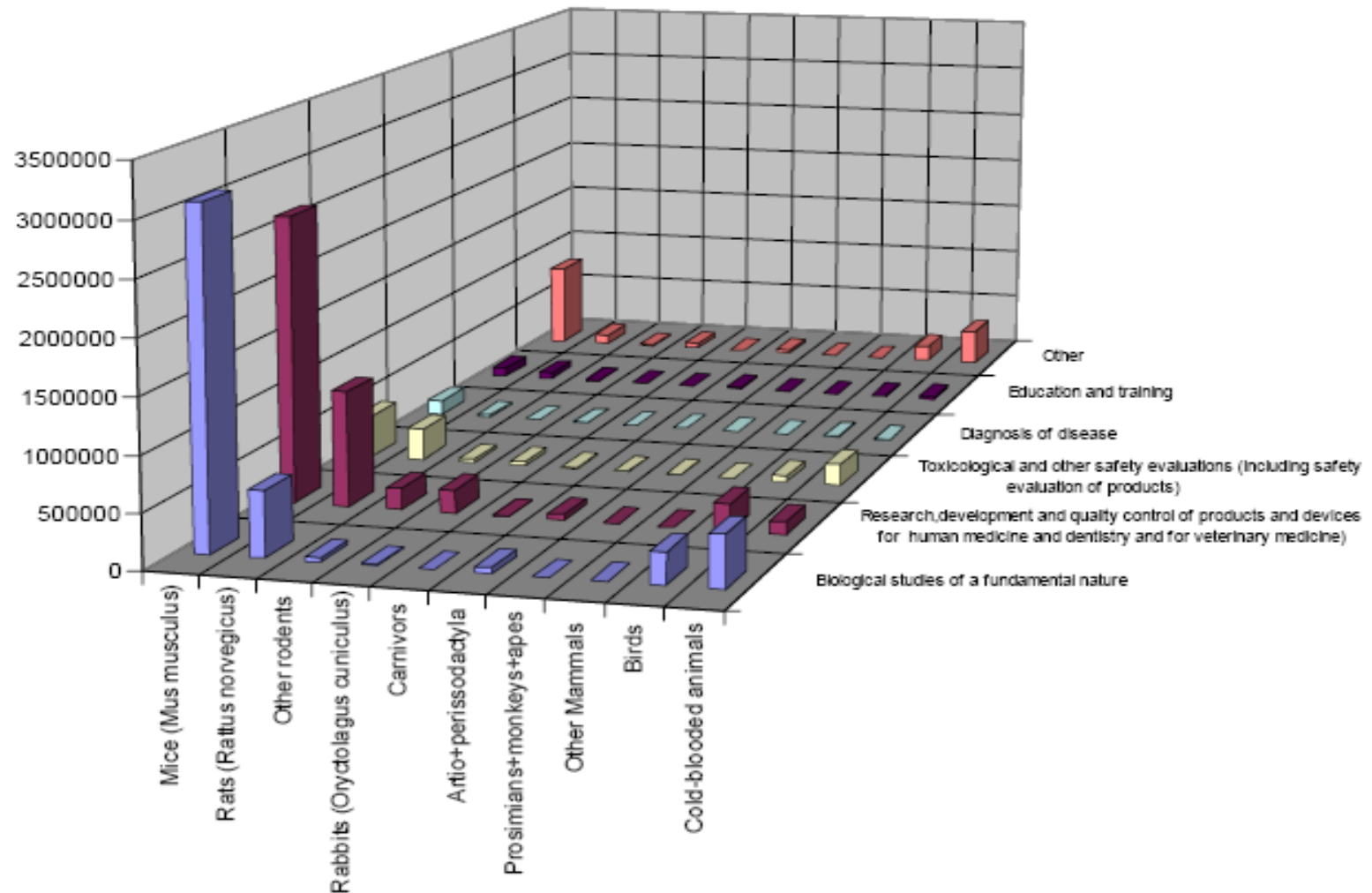
- Βασική Έρευνα
- Εφαρμοσμένη Έρευνα
- Τοξικολογικές Δοκιμές

Χώροι Πραγματοποίησης

- Πανεπιστήμια
- Κέντρα Ερευνών
- Φαρμακευτικές Εταιρίες
- Βιομηχανίες
- Φάρμες
- Στρατιωτικές Εγκαταστάσεις
- Εθνικές Υπηρεσίες Υγείας

ΧΡΗΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΩΝ ΣΤΗΝ ΕΕ

Species and experimental purposes



ΧΡΗΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΩΝ ΕΛΛΑΔΑ

- Τρωκτικά 86.36%
- Κόνικλοι: 5.34%
 - Ιχθύες 4.28%
 - Χοίροι 2.26%
- Αμφίβια 0.31%
- Βοοειδή 0.25%
- Πρόβατα 0.4%
- Σκύλοι 0.18%
- Αίγες 0.09%
- Γάτες 0.01%

Πειραματικές Μελέτες

«Είναι οι μελέτες που κάνουν χρήση ζωικών προτύπων για την εκπλήρωσή τους. Σκοπός τους είναι η διερεύνηση μιας ιατρικής υποθέσεως σε έναν ζώντα οργανισμό με ομολογία προς τον άνθρωπο, πριν η υπόθεση αυτή επανεξεταστεί σε ανθρώπινο μοντέλο.»



ΜΕΛΕΤΗ ΖΩΪΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ

Τίτλος οργανογράμματος

ΖΩΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

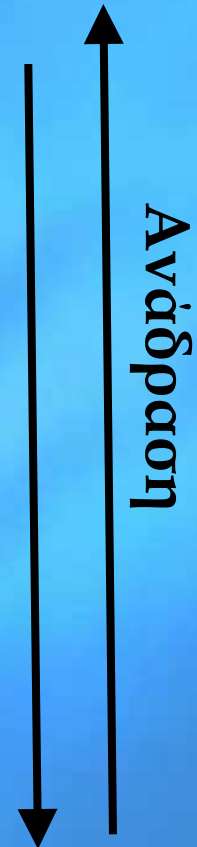
ΓΝΩΣΗ

ΚΑΤΑΝΟΗΣΗ ΒΑΣΙΚΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ

Βασικά Στάδια (1)

- Σύλληψη της Ιδέας
- Μελέτη Βιβλιογραφίας
- Επιλογή Στόχου
- Δημιουργία Ερευνητικής Ομάδος
- Επιλογή Ζωϊκού Προτύπου
- Σχεδιασμός Πρωτοκόλλου
- Άδεια Πειραματισμού
- Πιλοτική Υλοποίηση



Βασικά στάδια (2)

- Εφαρμογή Πρωτοκόλλου
- Ημερολόγιο Πειράματος
- Εργαστηριακές Μελέτες
- Συλλογή - Ανάλυση των Αποτελεσμάτων
- Δημοσιοποίηση των ευρημάτων
- Συμπεράσματα - Προοπτικές



Animal Research is Finely Tuned



A program sponsored by the
NIH Animal Research Advisory
Committee 301-496-5424

Σύλληψη της Ιδέας

- Καθημέρα Κλινική Πράξη
- Απόρροια Προηγούμενου Ερευνητικού Πρωτοκόλλου
- Προβληματισμός από τη Βιβλιογραφία

Βιβλιογραφική Έρευνα

- Αποτελεί τη βάση για μια ερευνητική προσπάθεια
- Χρονοβόρα
- Μπορούν να επιτευχθούν σημαντικά οφέλη
 - Οικονομία Κλίμακας (πόροι, ανθρωπόωρες..)
 - Τεκμηρίωση
 - Τεχνογνωσία
 - Ανάδειξη Δυνατοτήτων

Στάδια Βιβλιογραφικής Μελέτης

- Γενική Επισκόπηση
 - Ειδική Διερεύνηση
 - Έρευνα για κάθε επί μέρους τομέα
 - Σχεδιασμός Μεθοδολογίας
-

- Σύγκριση αποτελεσμάτων
- Τεκμηρίωση των ευρημάτων

Επιλογή Στόχου

- **Απαραίτητος ο ακριβής προσδιορισμός ενός και μόνο πρωτεύοντος στόχου.**
 - Κριτήρια Εφικτότητας
 - Πρωτοτυπία της Μελέτης
 - Σημαντικότητα Ευρημάτων
 - Αμεσότητα Εφαρμογής
 - Ιεράρχηση δευτερευόντων στόχων
 - Πιθανές Επεκτάσεις

Ερευνητική Ομάδα

- Ο σημαντικότερος παράγοντας για την επιτυχία μιας ερευνητικής προσπάθειας.
- Οφείλει να αποτελείται από:
 - Αξιόλογες μονάδες με διακριτές και σαφώς οριοθετημένες αρμοδιότητες.
 - Μονάδες που καλύπτουν πλήρως τις ανάγκες για τεχνογνωσία και υποστήριξη της έρευνας.
 - Ανθρώπους που αλληλοεκτιμούνται και μπορούν να συνεργαστούν αρμονικά.



Τμήματα Ε.Ο.

- Υπεύθυνος Πειράματος
- Ιατροί
- Κτηνίατρος
- Εργαστηριακή Ομάδα
- Τεχνική Υποστήριξη
- Ομάδα Ανάλυσης – Αξιοποίησης Δεδομένων

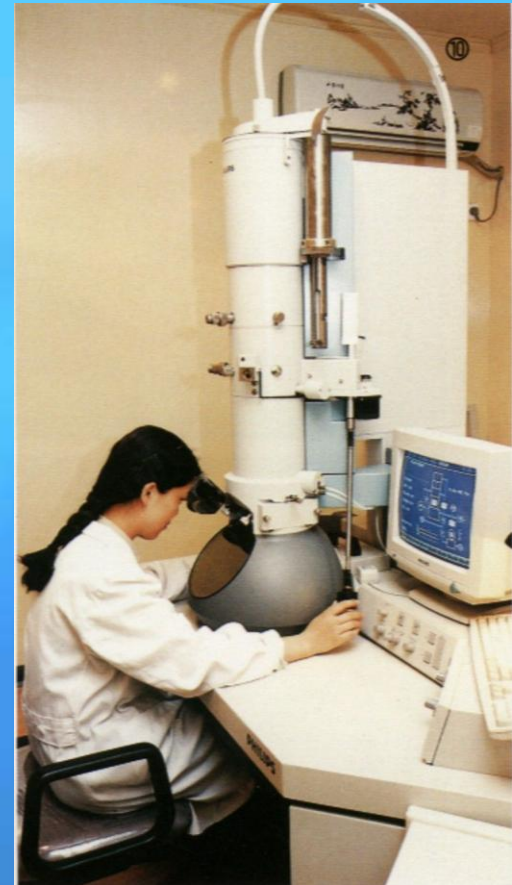
Εργαστηριακή Ομάδα

Υπεύθυνοι

- Βιοχημικών – Αιματολογικών Αναλύσεων
- Μοριακών Τεχνικών
- Ανοσοϊστοχημικών Αναλύσεων
- Παθολογοανατομικών Μελετών
- Μικροβιολογικών Αναλύσεων
- Απεικονιστικών Μεθόδων
- Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου

Τεχνική Υποστήριξη

- Νοσηλευτές
- Παρασκευαστές
- Τεχνολόγοι
- Ζωοκόμοι
- Φροντιστές
Πειραματοζώων



Πειραματικό ζωικό πρότυπο

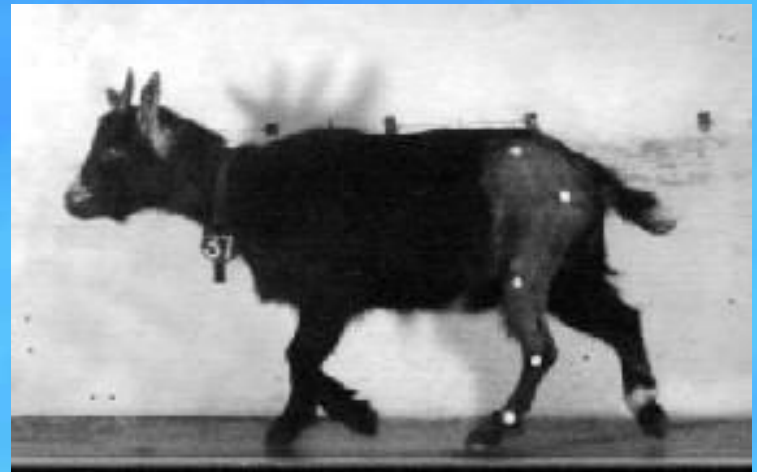
Πειραματικό ζωικό πρότυπο για μια ασθένεια θεωρείται το είδος του ζώου (ή υποείδος) στο οποίο μια αυθόρμητη ή προκλητή παθολογική κατάσταση μπορεί να ερευνηθεί και η οποία μοιάζει στο μεγαλύτερο δυνατό βαθμό με την αντίστοιχη κατάσταση στον άνθρωπο

Κριτήρια Επιλογής Ζωϊκού Προτύπου

- Καταλληλότητα είδους ή υποείδους
- Κόστος Απόκτησης
- Κόστος Συντήρησης
- Δυνατότητα προμήθειας Πειραματοζώου
- Συνθήκες διαμονής, διατροφής και αναπαραγωγής
- Ύπαρξη απαραίτητων μεθοδολογιών και υλικών για τη διεκπεραίωση των εξετάσεων στο συγκεκριμένο είδος

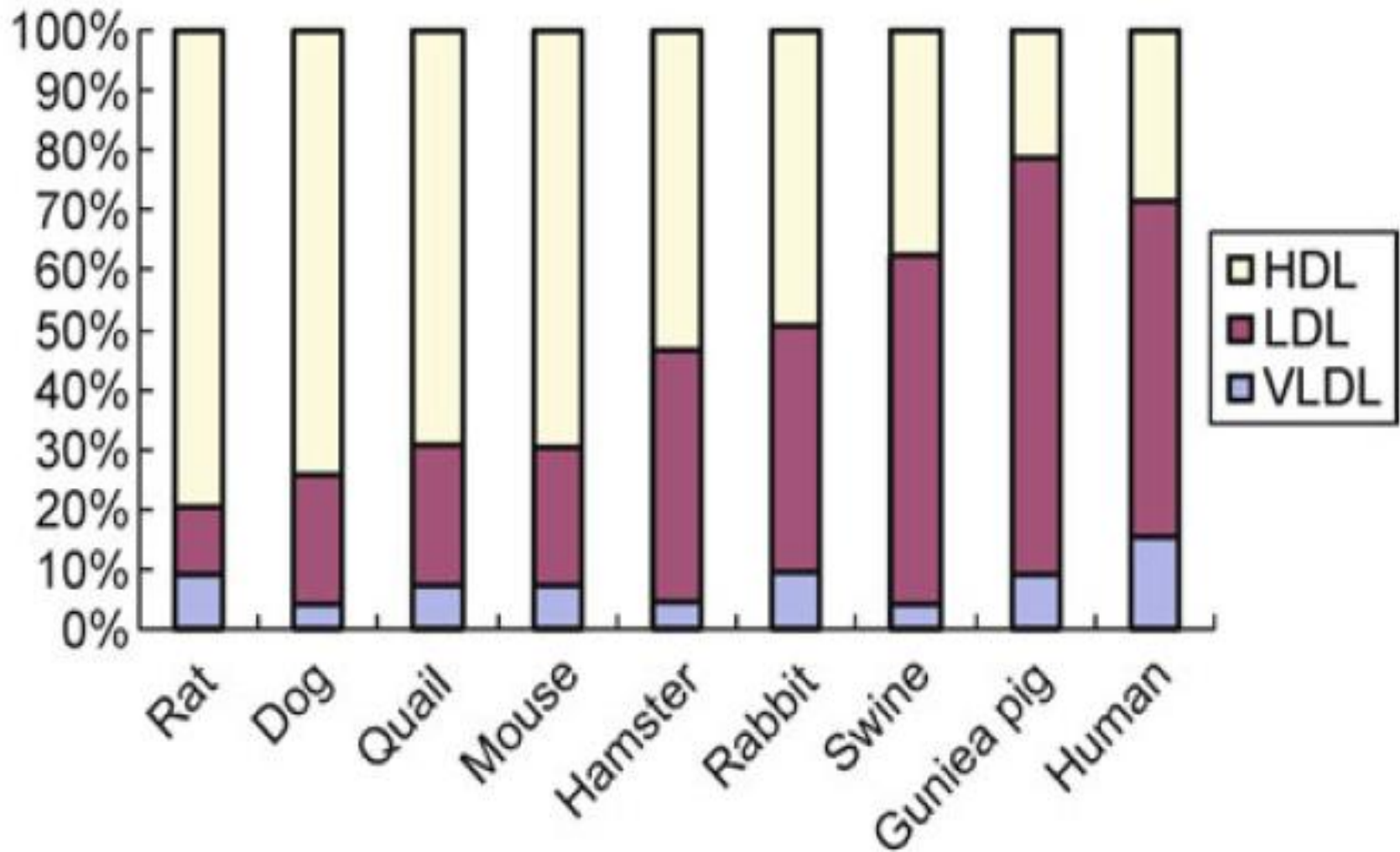
Είδη Ζωικών Προτύπων

- Μύες
- Επίμυες
- Ινδικά Χοιρίδια
- Κόνικλοι
- Χοίροι
- Πρόβατα
- Πρωτεύοντα



ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ – ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟΣ

Lipid cholesterol distributions



ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΑ ΖΩΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ

Διαγονιδιακά:

Εισαγωγή στο γονιδίωμα ξένων ή τροποποιημένων γονιδίων. Στον διαγονιδιακό μύ τα χρωμοσώματα έχουν αλλάξει έτσι ώστε τα γονιδιά του να περιέχουν το ξένο DNA. Αυτά τα γονίδια βρίσκονται στον πυρήνα κάθε κυττάρου του σώματος, έτσι ώστε όλα τα κύτταρα του περιέχουν το νέο DNA. Το ξένο DNA μπορεί προέρχεται από οποιαδήποτε πηγή, και μπορεί να είναι ανθρώπινο, από ένα άλλο ζώο ή από έναν άλλο μύ,

Knockout:

Στοχευμένη μεταλαξογέννεση γονιδίων,

αντικατάσταση φυσιολογικού με ελλατωματικό γονίδιο
αφαίρεση τμήματος ή ολόκληρου γονιδίου

Σκοπός:

Μετά από κατάλληλες τροποποιήσεις του γονιδιώματος των πειραματόζων , να προκύψουν βέλτιστα πρότυπα μελέτης ασθενειών

Ελάχιστος Αριθμός Προτύπων

«Υπολογισμός από ειδικό του ελαχίστου αριθμού Πειραματοζώων που μπορούν να προσφέρουν ακριβή αποτελέσματα»

Αξιολογώντας:

- Βιβλιογραφικά Δεδομένα
- Εκτιμήσεις της ερευνητικής ομάδας
- **Αποτελέσματα Πιλοτικού Πειράματος**

Οφέλη

- Ηθικά
- Κόστος (Οικονομικό – Ανθρωποώρες)
 - Απόκτηση
 - Συντήρηση
 - Παρέμβαση
- Επιστημονικά

Σχεδιασμός Πρωτοκόλλου

- Σχεδιασμός Μεθοδολογίας
- Καθορισμός Οροσλήμων
- Καθορισμός Χρονικής Διάρκειας
- Επιλογή Υποδομών
- Μελέτη Κόστους – Εφικτότητας
- Εύρεση Πόρων
- Λεπτομερής Καταγραφή Σταδίων
- Καταμερισμός Αρμοδιοτήτων
- Προμήθεια Υλικού - Αναλωσίμων

Τύποι Παρεμβάσεων

- Τρόπου Διαβίωσης
 - Άσκηση
 - Stress
 - Κιρκάρδιος Ρυθμός
 - Μόλυνση
- Διατροφικές
- Φαρμακευτικές
- Χειρουργικές



Άδεια πειραματισμού

1. Αίτηση του Υπεύθυνου Πρωτοκόλλου/ΥΕ (σκοπός της μελέτης, αριθμός, είδος και ηλικία των ζώων, στοιχεία σχετικά με την αναισθησία, αναλγησία, ευθανασία και την εγκατάσταση πειραματισμού).
 2. Αντίγραφο πτυχίου του ΥΕ και της ερευνητικής ομάδας
 3. Βιογραφικό σημείωμα του ΥΕ και της ερευνητικής ομάδας
- Εγκρίνεται από επιτροπή αξιολόγησης πρωτοκόλλων (ΕΑΠ)
- Ισχύει για τρία χρόνια με δυνατότητα ανανέωσης

Π.Δ. 56/2013(Α', 106) «Προσαρμογή της ελληνικής νομοθεσίας στην Οδηγία 2010/63/ΕΕ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς σκοπούς».

Στόχοι της νομοθεσίας για την προστασία των πειραματόζων



1. Σαφής προσδιορισμός των σκοπών της έρευνας
2. Διασφάλιση της γενικής φροντίδας και των συνθηκών διαβίωσης
3. Προστασία των αδέσποτων κατοικίδιων ζώων και αυτών που βρίσκονται υπό εξαφάνιση
4. Περιορισμός στο ελάχιστο κατά το δυνατόν του πόνου, της ταλαιπωρίας, της αγωνίας και της μόνιμης βλάβης
5. Αποφυγή άσκοπης επανάληψης πειραμάτων
6. Ενθάρρυνση της έρευνας για ανάπτυξη εναλλακτικών μεθόδων πειραματισμού

Σύγχρονες τάσεις πειραματισμού

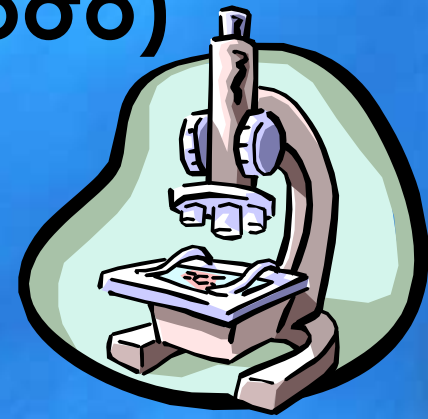
- Μείωση του αριθμού χρησιμοποιούμενων ζώων του εργαστηρίου.
- Κατάλληλη φροντίδα για τα ζώα αυτά
- Περιορισμός ή και κατάργηση του πόνου, της αγωνίας ή της μόνιμης βλάβης που υφίστανται τα ζώα
- Αποφυγή της άσκοπης επανάληψης των πειραμάτων στην Βιοϊατρική Έρευνα
- Να σταματά το πείραμα το ταχύτερο και να μεταφέρονται τα δεδομένα στον άνθρωπο

Πιλοτική Εφαρμογή

- Επιλογή αντιπροσωπευτικού συνόλου
- Επιλογή ελάχιστου αριθμού περιπτώσεων
- Πλήρης Εφαρμογή Επιλεγμένης Μεθοδολογίας
- Εκτενής Καταγραφή – Σχολιασμός
- Συλλογή Αποτελεσμάτων
- Αξιολόγηση
- Αποδοχή – Επαναπροσδιορισμός Πρωτοκόλλου

Πρωτόκολλο εργασίας εργαστηρίων

- Προετοιμασία Πειραματοζώων
- Τρόπος Λήψης Δείγματος
- Παράμετροι που θα μελετηθούν
- Προετοιμασία ορισμένων φαρμάκων (Δοσολογία, τρόπος χορήγησης)
- Φύλαξη Δειγμάτων (Που και Πόσο)



Προαναλυτικά σφάλματα

- Βιολογική μεταβλητότητα ζώου
- Ιατρικές παρεμβάσεις που επηρεάζουν τους προσδιορισμούς
- Κακοί χειρισμοί κατά τη διαδικασία συλλογής των δειγμάτων
- Κακοί χειρισμοί κατά τη σήμανση και φύλαξη των δειγμάτων

Εφαρμογή Πρωτοκόλλου

- Λεπτομερέστατο Ημερολόγιο Πειράματος
- Τήρηση Προδιαγραφών
- Συγκέντρωση – Καταγραφή συνόλου Αποτελεσμάτων
- Καθαρισμός – Αποδελτίωση
- Ανάλυση – Εκτίμηση
- Εξαγωγή Συμπερασμάτων
- Δημοσιοποίηση Αποτελεσμάτων
- Επιλογή νέων Στόχων

Ημερολόγιο Πειράματος

- Λεπτομερής καταγραφή καθημερινής δραστηριότητας του πειράματος.
- Πολύτιμες πληροφορίες (μικρές και μεγάλες), όσον αφορά την καθημερινότητα του πειράματος

Χρηματοδότηση

Εύρεση Πόρων

- Λαμβάνει χώρα **πριν** την έναρξη της έρευνας
- Χρειάζεται προεργασία και μελέτη.
- Μπορεί να απαιτήσει επένδυση αρκετών ανθρωποωρών.
- Σημαντική Παράμετρος Επιτυχίας μιας Μελέτης

Τομείς Χρηματοδότησης

- Υποστήριξη Ερευνητών
 - Υποτροφίες
 - Συμβάσεις Έργου
- Αγορά Αναλωσίμων
 - Αντιδραστήρια
 - Ζωϊκά Πρότυπα
 - Αναλώσιμα Εργαστηρίου
- Αγορά Ιατρικών Μηχανημάτων
- Έξοδα Μετακινήσεων - Δημοσιεύσεων
- Συνδυασμός

Εξεύρεση Πόρων

- Ίδια Κεφάλαια (Ομάδος)
- Ιδιωτική Χρηματοδότηση
- Χορηγίες από Κοινωνικά Ιδρύματα
- Χρηματοδοτικά Προγράμματα

Κοινωνική Ιδρύματα

- Ίδρυμα Ωνάση
 - www.onassis.gr
- Ίδρυμα Μποδοσάκη
 - www.bodossaki-foundation.gr
- Εμπειρικό Ίδρυμα
 - www.empirikion.gr
- Ίδρυμα Λάτση
- ΙΚΥ
- Ίδρυμα Νιάρχου

Χρηματοδοτικά Προγράμματα

- Δράσεις Ελλάδας – Ε.Ε.
 - Προγράμματα Ε.Π.Ε.Α.Ε.Κ. , ΕΣΠΑ
 - Πυθαγόρας I, II
 - Ηράκλειτος I, II
 - Θαλής
 - ΑΡΙΣΤΕΙΑ I, II
- Δράσεις Ε.Ε.
 - FP7: IDEAS (Έρευνα)
 - FP7: PEOPLE (Υποστήριξη Ερευνητών)
 - FP7: COOPERATION (Συνεργασίες)
 - FP7: CAPACITIES (Υποδομή)
 - [Horizon 2020 - European Commission](#)
 - **ΕΛΙΔΕΚ**

Αίτημα Χρηματοδότησης

- Περιγραφή Πρωτοκόλλου
- Ερευνητική Ομάδα
- Χρόνος Εκπόνησης
- Σημαντικά Ορόσημα
- Τεχνικές Προδιαγραφές
- Απαιτήσεις σε Υλικό - Αναλώσιμα
- Απαιτήσεις σε Πόρους

Περιγραφή Πρωτοκόλλου Ι

- Διατύπωση του Προβλήματος
 - Π.χ. οι καρδιαγγειακές παθήσεις είναι η πρώτη αιτία θανάτου.
 - Είναι πολυπαραγοντική νόσος
- Διατύπωση της κατάστασης σήμερα
 - Ερευνώνται οι τομείς Α, Β και Γ, με σκοπό...
- Διατύπωση της Ερευνητικής Ιδέας – Στόχου
 - Η επίδραση της ουσίας Χ δεν έχει ακόμα ερευνηθεί.

Περιγραφή Πρωτοκόλλου Ι

- Σαφής αναφορά στη μεθοδολογία
 - Αριθμός Προτύπων ή Συμμετεχόντων (αναφορά μελέτης ισχύος)
 - Παρεμβάσεις
 - Καταγραφόμενα Δεδομένα
- Εκτενέστατη Αναφορά στους Στόχους
 - Αναμενόμενα Αποτελέσματα
 - Απόκτηση νέων Γνώσεων
 - Επίδραση στην Υγεία ή Ποιότητα Ζωής
 - Πατέντες – Προϊόντα – Καινοτομία
 - Μελλοντικές Εξελίξεις

Σημαντικά Ζητήματα

- Να εμφανίζεται επαρκής γνώση του αντικειμένου
- Σαφής παρουσίαση των μεθόδων
- Να υποστηρίζεται από ικανή ερευνητική ομάδα.
- Συμμετοχή απαραίτητων φορέων (Εργαστηρίων, Κλινικών κλπ).
- Παρουσίαση Δράσεων που άμεσα ωφελούν την Κοινωνία ή παράγουν καινοτομία.
- Παρουσίαση της σημασίας της έρευνας.
- Παρουσίαση της πρωτοπορίας.
- Παρουσίαση στόχων, αναμενόμενων αποτελεσμάτων και συνεπειών αυτών.

Αρνητικές Πλευρές

- Εκτενέστατες αιτήσεις που απαιτούν χρόνο
- Χρόνος Αναμονής Αποτελεσμάτων
- Αιτήματα Τροποποίησης κατόπιν κρίσεως
- Γραφειοκρατία
- Αυτεπιστάσια και Γραμματειακή Υποστήριξη του Έργου
- Καθυστερήσεις – Διαγωνισμοί
- Παραδοτέα

Θετική Πλευρά

- Σημαντικοί πόροι
- Καλύπτουν εκτενέστατες ερευνητικές προσπάθειες
- Επιβραβεύουν τη συνεργασία μεταξύ χωρών.
- Βοηθούν νέους ερευνητές

Η υποστήριξη από Κοινωφελές Ίδρυμα, το Κράτος ή την Ε.Ε. είναι μια μορφή καταξίωσης μιας μελέτης.

Πειραματική Έρευνα

Ένα Αμφιλεγόμενο Θέμα

«Η χρήση Ζωϊκών προτύπων είναι απαραίτητη για την Ιατρική Έρευνα;»

Κατά το U.S. Foundation for Biomedical Research:

«Η Πειραματική έρευνα έχει διαδραματίσει ένα καίριο ρόλο σε κυριολεκτικά κάθε σημαντική Ιατρική ανακάλυψη και καινοτομία τον προηγούμενο αιώνα, τόσο για την ανθρώπινη Υγεία όσο και για την Υγεία των ζώων.»

Αρνητική Κριτική

Επιχειρήματα σχετικά με την Υλοποίηση

- Πολλές έρευνες δεν περιέχουν το απαραίτητο επιστημονικό ενδιαφέρον.
- Δεν πραγματοποιούνται με σκοπό το ερευνητικό αποτέλεσμα.
- Μη τήρηση κανόνων και οδηγιών κατά την υλοποίηση.
- Υπάρχει ελλιπής έλεγχος των εγκαταστάσεων που πραγματοποιούνται τα πειράματα.

Αναγκαιότητα των Πειραματικών Ερευνών

- Είναι αντιδεοντολογικό να πραγματοποιούνται παρεμβάσεις απευθείας σε ανθρώπους.
- Χρησιμοποιώντας ζωικά πρότυπα μπορούμε να έχουμε απόλυτο έλεγχο των παρεμβάσεων.
- Προσφέρεται η δυνατότητα πραγματοποίησης μίας ή και περισσότερων παρεμβάσεων.

Αναγκαιότητα των Πειραματικών Ερευνών

- Ο σχετικά μικρός χρόνος ζωής των προτύπων και η μεγάλη τοκετοομάδα επιτρέπουν την παρακολούθηση πολλών γενεών σε μικρό χρονικό διάστημα.
- Τα ζωικά πρότυπα που χρησιμοποιούνται έχουν εκτραφεί για αυτό το σκοπό και είναι ελεύθερα ασθενειών.

Αναγκαιότητα των Πειραματικών Ερευνών

- Τα περισσότερα από τα προβλήματα που έχουν επισημανθεί αντιμετωπίζονται:
 - Από προσεκτικό σχεδιασμό των πειραμάτων (Βεβαίωση για την ομολογία της παρέμβασης, του μοντέλου, των πιθανών παρενεργειών κλπ).
 - Τηρώντας τους κανόνες που διέπουν τις αρχές πειραματισμού (διαβίωση, πειραματισμός, ευθανασία κλπ).
 - Ελέγχοντας τακτικά ερευνητές και εγκαταστάσεις πειραματισμού.

Αναγκαιότητα των Πειραματικών Ερευνών

- Όταν κάνουμε μία παρέμβαση σε ένα ζωικό πρότυπο έχουμε απάντηση από το σύνολο των συστημάτων ενός οργανισμού.
- Δεν υπάρχει εναλλακτική μέθοδος όταν επιθυμούμε να μελετήσουμε αλληλεπιδράσεις μεταξύ συστημάτων.

Αναγκαιότητα των Πειραματικών Ερευνών

- Εμφανίζεται στη βιβλιογραφία πλειάδα περιπτώσεων βλαβών, εξαιτίας ελλιπούς ελέγχου σε ζωικά πρότυπα.
- Έχουν συμβάλει θετικά στην αναβάθμιση της ανθρώπινης ζωής και στην εξάλειψη του πόνου.
- Αντίστοιχα θετικά αποτελέσματα έχουν και στην ποιότητα ζωής και στο προσδόκιμο επιβίωσης των ζώων.

Αποτελέσματα Πειραματικών Ερευνών

Σχεδόν κάθε σημαντική ανακάλυψη έχει ως βάση της ένα Ερευνητικό Πειραματικό Πρωτόκολλο, ωφελώντας πολλαπλώς τον άνθρωπο.

Βραβευμένες Έρευνες IMES Λοιμωξιολογία

- 70 από τα τελευταία 103 Νόμπελ Ιατρικής βασίστηκαν σε Πειραματικές Έρευνες.
- Μεταξύ αυτών: von Behring , Ross, Pavlov, Koch, Golgi, Cajal , Metchnikov, Carrel, Flemming, Moniz, Krebs, Burnet, Hodgkin...
- 12 από τα τελευταία 14 (1990-2004)

Εναλλακτικές Μέθοδοι

Ιστορικά στοιχεία

- Ο όρος εναλλακτικές μέθοδοι επινοήθηκε το 1978 από τον David Smyth και αφορά εκείνες τις μεθόδους που είναι σε θέση να δώσουν τις ίδιες πληροφορίες με τις συμβατικές, χωρίς να χρησιμοποιούν ζώα, μειώνοντας τον αριθμό τους, ή βελτιώνοντας τις συνθήκες πειραματισμού.
- Η απαρχή της καθιέρωσης των εναλλακτικών μεθόδων βρίσκεται σε πρόγραμμα του 1954 από το UFWA, ενός οργανισμού ευαισθητοποιημένου σε θέματα προστασίας των ζώων.
- Αποτέλεσμα του παραπάνω πονήματος ήταν η έκδοση του βιβλίου “The Principles of Humane Experimental Technique” το 1959, από τους Bruch και Russell.
- Στο βιβλίο αυτό πρωτοαναφέρονται τα 3R: Refinement, Reduction, Replacement.

Τα τρία “R” (3Rs)

- Russell, W.M.S. and Burch, R.L., The Principles of Humane Experimental Technique. Methuen, London, 1959.
- Κατέληξαν να περιγράφονται από τα 3Rs:
 - Refinement (Εκλέπτυνση - Βελτιστοποίηση)
 - Reduction (Μείωση)
 - Replacement (Αντικατάσταση)
- Αποτελούν θεσμοθετημένη προϋπόθεση και όχι μεθοδολογίες εναλλακτικής αντιμετώπισης.

Refinement (Εκλέπτυνση)

«Αναφέρεται στη βελτιστοποίηση των χρησιμοποιούμενων μεθόδων, με στόχο τη μείωση πόνου ή στρες και τη βελτίωση των συνθηκών διαβίωσης των πειραματοζώων.»

Περιλαμβάνει:

- Χρήση μη επεμβατικών μεθόδων.
- Υιοθέτηση κάθε σύγχρονης μεθόδου που μειώνει την πρόκληση του πόνου ή stress
- Κατάλληλη εκπαίδευση του προσωπικού για τη βέλτιστη φροντίδα των πειραματοζώων.

Reduction (Μείωση)

- Αναφέρεται σε μεθόδους που επιτρέπουν την απόκτηση:
 - Αντιστοίχου ποσού πληροφορίας από μικρότερο αριθμό πειραματοζώων.
 - Μεγαλύτερου ποσού πληροφορίας από τον ίδιο αριθμό πειραματοζώων

Περιλαμβάνει:

- Επιλογή του ελάχιστου αριθμού πειραματοζώων, κατόπιν υποδείξεως ειδικού.
- Αξιοποίηση των πειραματοζώων σε περισσότερα από ένα πρωτόκολλα
- Βελτίωση της ποιότητας των μοντέλων
- Βελτιστοποίηση των χρησιμοποιούμενων μεθόδων σε κάθε στάδιο (Διαγνωστικών, Εργαστηριακών, Στατιστικής Ανάλυσης..)

Replacement (Αντικατάσταση)

«Αναφέρεται στην υιοθέτηση μεθόδων που δεν χρησιμοποιούν ζωικά πρότυπα, σε περιπτώσεις που είναι εφικτή η επίτευξη του ίδιου επιστημονικού στόχου.»

Περιλαμβάνει:

- Τεχνικές in vivo (φυλογενετικά κατώτεροι οργανισμοί)
- Τεχνικές in vitro
- Τεχνικές in silico

Τεχνικές *in vivo*

Περιλαμβάνουν φυλογενετικά κατώτερους οργανισμούς

- Έντομα
- Μαλάκια
- Αμφίβια

Τεχνικές in vivo

Πλεονεκτήματα

- Μεγάλη εμπειρία
- Μεγάλες τοκετοομάδες
- Μικρός χρόνος ζωής – αναπαραγωγής
- Μικρό κόστος απόκτησης
- Εύκολη φύλαξη – συντήρηση
- Αυτοματοποίηση διαδικασιών

Μειονέκτημα

Απόσταση από το σύστημα ενδιαφέροντος
(άνθρωπος)

Τεχνικές *in vitro*

Οι μελέτες *in vitro* περιλαμβάνουν:

- Καλλιέργειες κυττάρων
- Καλλιέργειες ιστών
- Καλλιέργειες οργάνων

Τεχνικές *in vitro*

Πλεονεκτήματα

- Μελέτη σε βάθος του φαινομένου
- Δυνατότητα μεγάλου αριθμού επαναλήψεων
- Μικρό κόστος
- Άριστος έλεγχος των συνθηκών της υπό μελέτη διαδικασίας

Μειονεκτήματα

- Απουσία οργανισμού
- Απουσία διασυστημικών και ενδοσυστημικών αλληλεπιδράσεων

Τεχνικές *in silico*

Έκφραση που αναφέρεται σε βιολογικά πειράματα, τα οποία διενεργούνται εξολοκλήρου σε Ηλεκτρονικό Υπολογιστή. (Miramontes 1989)

Περιλαμβάνουν:

- Μέθοδοι που βασίζονται στην ανάλυση σχέσης δομής-δράσης μορίων
- Μοντέλα Προσομοίωσης
 - Δράσεων (Φαρμακοκινητικής)
 - Παρεμβάσεων
 - Εξέλιξης

Τεχνικές *in silico*

Πλεονεκτήματα

- Δυνατότητα τεράστιου αριθμού επαναλήψεων
- Μικρό κόστος χρήσης
- Δυνατότητα επόπτευσης κάθε σταδίου
- Αυξημένες δυνατότητες παρέμβασης

Μειονέκτημα

- Σχεδιάζονται από ανθρώπους

Επιδημιολογικές Μελέτες

Πλεονεκτήματα

- Αξιοποίηση ήδη υπαρχόντων δεδομένων
- Μικρό κόστος
- Οφέλη προηγούμενων μελετών μεγιστοποιούνται

Μειονεκτήματα

- Μεγάλο μέρος δεδομένων δεν καταγράφεται ή συγκεντρώνεται
- Χαμηλή αξιοπιστία δεδομένων
- Πιθανότητα απόκλισης από το πραγματικό φαινόμενο

Microdosing - Μικροδοσολογία

Εξαιρετικά πρόσφατη τεχνική (1997) που μελετά τη δράση ουσιών in vivo, μέσω της χορήγησης ελάχιστης δόσεως φαρμάκου, ώστε να μην υπάρχει συστηματική αντίδραση (whole body effect), αρκετής όμως για να επιτρέψει τη μελέτη κυτταρικών αλληλεπιδράσεων.

Περιλαμβάνει

- Τη σήμανση της υπό μελέτη ουσίας με ισότοπο
- Χορήγηση φαρμάκου στο 1/100 της δόσης (1-100μg)
- Μελέτη της φαρμακοκινητικής μέσω παρακολούθησης της σημασμένης ουσίας και των επιπέδων ραδιενέργειας στο αίμα και στα παραγόμενα προϊόντα.

Το Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.Σ.Χρηστέας» της Ιατρικής Σχολής Αθηνών

www.lessr.eu

- **1974**

- Ίδρυση από τον Ακαδημαϊκό - Καθηγητή κ. Γ. Σκαλκέα.
- 1^ο Πειραματικό Χειρουργείο στην Ελλάδα

- **1994**

- Αυτόνομο Πειραματικό Εργαστήριο της Ιατρικής Σχολής

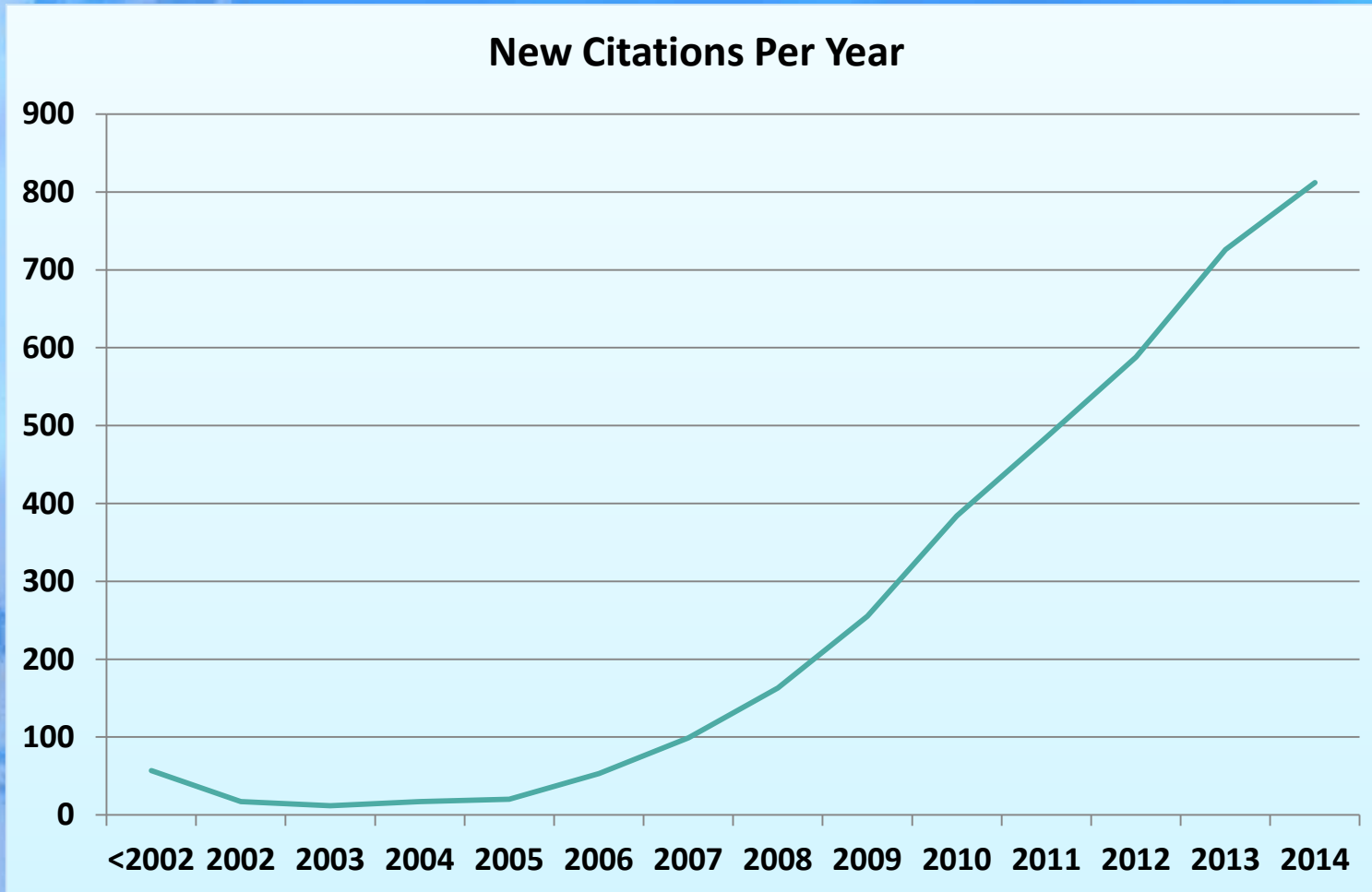
- **1994 – Σήμερα**

- Το **Μόνο Θεσμοθετημένο** Πειραματικό Εργαστήριο της Ιατρικής Σχολής Αθηνών
- **Κέντρο Ικανότητας (Competence Center)**
 - Πειραματική και Κλινική Έρευνα
 - Βασική και Εφαρμοσμένη Έρευνα

Ετήσια Οικονομικά Στοιχεία

- Μέσο Κόστος Ερευνών (εκτός μισθοδοσίας): ›300.000€
- Τακτικός Προϋπολογισμός: --- €
- Η διαφορά καλύπτεται από:
 - Εθνικά Χρηματοδοτικά Προγράμματα
 - Διεθνή Χρηματοδοτικά Προγράμματα
 - Χορηγίες Κοινωνικών Ιδρυμάτων
 - Παροχή Υπηρεσιών

Δημοσιεύσεις – Αναφορές κατ' έτος



Πηγή: Scopus

~30 Δημοσιεύσεις / έτος τα τελευταία 7 χρόνια

Documents (289)

h-index (27)

Citations (2831)

Co-authors (150)

Analyze documents published between:

2007

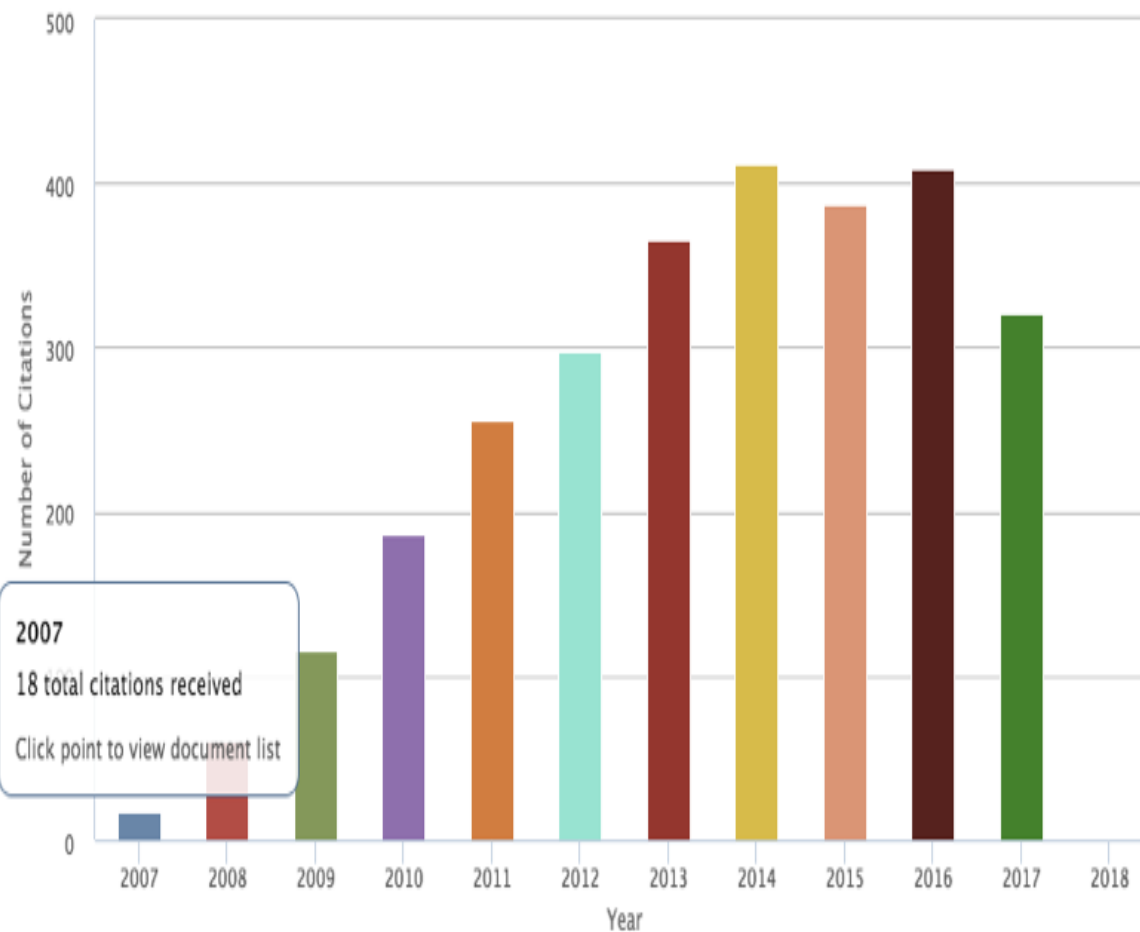
to

2017

Update Graph

Year	Citations
2018	1
2017	321
2016	409
2015	387
2014	412
2013	366
2012	298
2011	256
2010	186
2009	116
2008	61
2007	18

Citations by year



Perrea, Despina N.

Note: Scopus is in progress of updating pre-1996 cited references going back to 1970. Pre-1996 citation counts might increase over time.

Η έρευνα...

- Διευρύνει τους ορίζοντες σας
- Μελέτη της Διεθνούς Βιβλιογραφίας και Αμερόληπτη Κριτική
- Σεβασμός στους κανόνες
- Ατομική και συλλογική προσπάθεια
- Μετριοπάθεια /Αυτοπεποίθηση.
- Προσπάθεια για το ανέφικτο.
- Αποδοχή του «λάθους» και επανεκκίνηση
- Ρεαλισμό και Αισιοδοξία
- Συνεργασίες
- Η χαρά της δημιουργίας
- Δυνατές φιλίες
-

**For 4th time in a row!!!
Congratulations! You guys rock!
We are so proud of you!**



