

研究性实验设计

(2007.10)

方三华
浙江大学医学院

主要内容

一、研究设计

二、命题



一、研究设计

研究立题：

做什么？

研究设计：

怎么做？



- (一) 研究要素的合理组合
- (二) 研究设计原则
- (三) 研究条件的控制
- (四) 研究过程的规范化

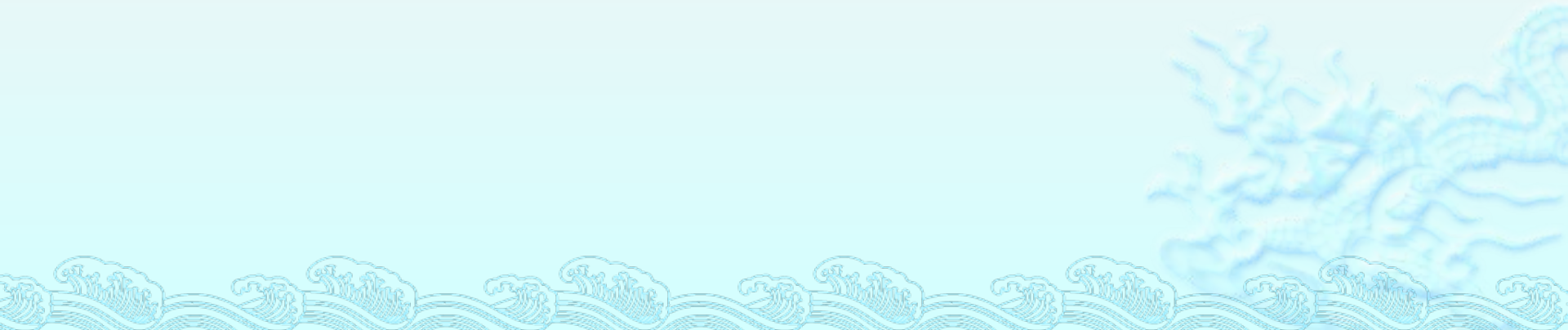
(一) 研究要素的合理组合

每项实验必须合理组织三项实验要素：

1. 试验对象

2. 处理因素

3. 试验效应



(一) 研究要素的合理组合

1. 试验对象

- ◆ 试验对象是指被用于实验研究的生物体或生物材料
 - 主要采用实验动物以及哺乳动物来源的细胞或细胞株，少数实验利用人的组织。
 - 在动物、组织或细胞的整个处置过程中，须保持其合适的生活或生存条件

(一) 研究要素的合理组合

2. 处理因素

- ◇ 处理因素是指为了观察某些变化，而人为施加的影响因素或作的操作

(1) 处理因素可以分为

- 一级处理（一般为病理模型诱导）
- 二级处理（一般为观察药物等的效应）
- 三级处理（一般为拮抗 / 增强药物效应）
- 一些试验采用单一处理因素，一些实验有更多的处理因素
还有一些实验单纯观察某种自然变化而无处理因素

(一) 研究要素的合理组合

(2) 每种处理因素可以分为：

- 单一水平（一种强度或剂量等）
- 多种水平（几种强度或剂量等）

处理因素和处理水平

(1) 单因素单水平

(2) 单因素多水平

(3) 多因素单水平

(4) 多因素多水平

（一）研究要素的合理组合

3. 试验效应

◆ 试验效应是指处理因素诱导或自然发生的一类变化，通过检测各种指标变化来反映试验效应

（1）试验效应的观察 有仪器测量的定量指标和人工观察的主观指标，应尽可能采用定量指标，对尚不能采用定量指标的，应当采用分等级的半定量评估方法及单盲法（即观察者不知道实验分组）

(一) 研究要素的合理组合

(2) 各种指标可以从不同侧面反映试验效应，应当采用能够准确或较准确反映试验效应的指标

- 各种指标测定方法应当实验前加以确定，没有特殊理由在实验中不能随意改变

(3) 定量指标的结果以实际测定的数值表示；定性指标的结果以出现某种反应的动物数以及百分率表示；半定量指标的结果以等级数值表示。

(一) 研究要素的合理组合

举例：

研究目的： 阐明A分子在脑缺血中的作用及有关特征

处理因素： 不同损伤模型（与哪类损伤有关）
不同损伤时间（变化的时间过程）

试验对象： 不同动物或细胞（发生在哪类对象）

试验效应： 不同检测手段（DNA、mRNA、蛋白等）
不同分子检测（对A分子有无特异性）
不同功能检测（与哪类功能相关）
不同部位表达（脑内定位，脑内特异表达）

（一）研究要素的合理组合

举例：

研究目的： 阐明A药体外神经元保护作用及有关特征

处理因素1： 不同损伤模型（保护哪类损伤）

处理因素2： 不同药物（是否为该药特定作用）

 浓度（效应定量，浓度依赖特征）

 时间（时间依赖特征）

试验对象： 不同细胞类型（针对哪类细胞）

试验效应： 不同指标（对不同功能的影响）

(二) 研究设计原则

- ◆ **对照** 控制试验条件
- ◆ **随机** 分组的客观化 减少抽样误差
- ◆ **重复** 样本数及重复次数 提高可靠性
- ◆ **盲法** 降低人为主观因素的干扰

(二) 研究设计原则

1、对照

(1) 基础条件的对照

正常对照或阴性对照，
操作条件对照（如假手术）

(2) 经典处理的对照

阳性对照（如脑损伤用依达拉奉）

(3) 试验条件对照

(4) 自身对照和组间对照

①自身对照（动物实验中少用）

②组间对照

两种对照的同时采用

(二) 研究设计原则

2、随机

- (1) 单纯随机法（随机数字表）
- (2) 均衡随机（分层随机）
- (3) 均衡顺序随机

(二) 研究设计原则

3、重复

同一试验的重复次数（样本量）；同一时间地点的多次重复

(1) 如处理组与对照组的反应差别较大，可使所需的样本量减少；反之，若两者差别不大。单靠增加样本量是不现实的，还应从专业角度考虑这种微小的差别是否有现实意义

(2) 试验手段、仪器设备越精密，所需样本量可减少。在试验中设计中应尽量注意仪器的校正、操作的规范化、指标的统一等，以提高试验质量

(二) 研究设计原则

(3) 从统计学角度看，要提高试验效率应注意以下几点：

①两组样本量相等，试验效率提高，可用较少的样本量取得显著的结论

②定量指标数据的试验效率高于定性指标数据，故尽量将采用定量指标以提高试验效率

③自身对照试验或配对试验可减少个体差异，提高试验效率，但应注意配对是否合理、前后两次测量值有无自然差异等

(二) 研究设计原则

4、盲法

双盲法

单盲法



(三) 研究条件控制

- 1、环境条件的控制
 - 2、生理条件的控制
 - 3、试验条件的控制
 - 4、操作人员因素的控制
 - 5、条件的前后一致
 - 6、控制试验误差
- 

(三) 研究条件控制

1、环境条件的控制

- 需要保持环境有适宜的气温和湿度、安静、相似的季节和昼夜时刻、无其他不良刺激等。对动物试验应当作更加严格的条件控制
- 由于有些试验动物生理过程的昼夜节律与人不同，如啮齿类动物（大鼠、小鼠等）是夜行性动物，其活动期在夜晚，静息期在白天，因此，用这些动物试验时，要选择适当和相同的昼夜时刻，并注意给动物保持光照和黑暗的时间

(三) 研究条件控制

2、生理条件的控制

- 受试对象的种族、性别、年龄、营养状况、遗传特征、各种生理功能状况等
- 在动物试验中，诸如血糖、血 O_2 分压、血 CO_2 分压、血及其他体液的pH、体温等生理因素
- 试验动物还应检测有无有关病原体（病毒、细菌、寄生虫等）感染
- 对动物实施麻醉，应当注意麻醉深度以及麻醉造成的生理功能改变，如体温降低、血压下降、心率加快等

(三) 研究条件控制

3、试验条件的控制

- (1) 受试者或动物 应当按要求选择和随机分组，保证各组的基本条件基本一致，保持可比性
- (2) 仪器设备 仪器设备的精确性、稳定性、可靠性都应符合试验要求，并且定期或试验前加以校正；还要规范操作方法，以保证定量的准确
- (3) 试剂材料 各种药物、试剂、细胞株、其他材料等，应当符合试验要求，都要贴标签注明名称、含量、来源、批号、日期、试验人员姓名等，防止发生差错；必要时对其稳定性、含量、活性进行检测，保证试验的可靠性

（三）研究条件控制

- （4）试验条件 应当事先确定各组条件，并严格按同一标准执行
- （5）操作规程 设计时应当制订切实可行，并且能保证试验质量的标准操作规程（SOP），并在实施规程中严格掌握

4、操作人员因素的控制

- （1）各种试验都是由研究人员来操作的，每个人员对各种条件和标准的掌握有不同程度的差异，这就会影响结果的准确性和一致性，造成较大的误差，因此，要对人员操作因素加以控制
- （2）除了事先要统一执行标准的具体做法外，为了避免主观因素的干扰，采用盲法是一个有效的方法

（三）研究条件控制

- 临床研究可采用双盲法，即受试者和研究者（包括数据分析人员）都不知道试验分组情况，因此受试者的反应和研究者的评判都较为客观
- 基础研究中，对一些容易受主观因素影响的定性或半定量指标，如动物行为学观察、病理切片观察等，应当实行单盲法，即负责观察的人员不知道处理方法和试验分组，而按照规定的标准进行观察，这样可以在很大程度上避免主观因素造成的偏差，使试验结果较为客观可信

(三) 研究条件控制

5、条件的前后一致

研究的各种条件，如受试对象的基本特点、动物及其品系、采用的仪器设备、各种试剂和材料、试验环境（温度、湿度、光照、噪声等）、试验方法、操作过程、采用的观察指标等，应当在设计时确定，研究全过程都要按照统一标准进行，中途改变条件会使试验结果前后难以比较，导致返工等问题

6、控制试验误差

- (1) 随机误差（不可避免）
- (2) 系统误差（注意纠正）
- (3) 人为误差（应当克服）

(四) 研究过程的规范法

1、规范化

- 操作、处理规范化
- 试验记录事先规定格式和内容
- 培养严谨的习惯
- 加强管理

（四）研究过程的规范法

2、记录内容及要求

- （1）在记录本或记录表中，记录试验日期、试验场所当天的室温及湿度（必要时）、记录者签名、审核者签名（必要时）
- （2）按照实验方案逐日对每一试验对象进行观察和记录，注意对象的编号与记录一致
- （3）临床试验中发现受试者出现不良事件，应及时记录，并作妥善的处理；动物试验中，发现濒死或者已死动物，要作记录和适当处理，必要时作病理学检查

（四）研究过程的规范法

- （4）记录实验标本的收集和编号
- （5）在研究过程中出现异常现象的，应做详细记录
- （6）所用记录的数据应当做到直接、及时、清晰和不易消除（不用圆珠笔或铅笔），并应当注明记录日期，由记录者签名，专题负责人复核后签名
- （7）记录的数据需要修改的，应当注明修改的理由以及修改日期，并由修改者签名；修改数据不得损毁原记录

二、命题

1. 癫痫与兴奋性毒性
2. 癫痫与5-脂氧合酶/半胱氨酰白三烯途径
3. 兴奋性毒性与5-脂氧合酶/半胱氨酰白三烯途径
4. 在检索上述文献基础上，对“半胱氨酰白三烯受体对癫痫发作的影响”作一初步的实验设计，以小组为单位，于下次课提交课堂讨论

（请大家准备powerpoint材料）