

Základní metody výzkumu

Základy metodologie

Empirické metody

Logické metody

Metody vyhodnocení získaných dat

Nevědecké (alternativní) přístupy v medicíně

Prof.MUDr. Augustin Svoboda,CSc.

Biologický ústav LF MU Brno

Metodologie

pojednává o tom, jak se poznává. Jejím předmětem jsou **poznávací metody**. Zajímá se o jejich používání a o jejich vývoj – tak jak postupuje poznání.

Metoda (z *lat. methodus*) je způsob, jak se získávají a vyjadřují vědecké poznatky a jak se s poznatky zachází.

V užším slova smyslu je metodologie nauka o tom, jak při vědeckém studiu klást správně otázky a jak na ně hledat odpovědi.

Metodologie biologických věd,

mezi něž patří také lékařství, se nezajímá ani tak o předmět biologického studia, ale především o způsob, jak se předmět zkoumá.

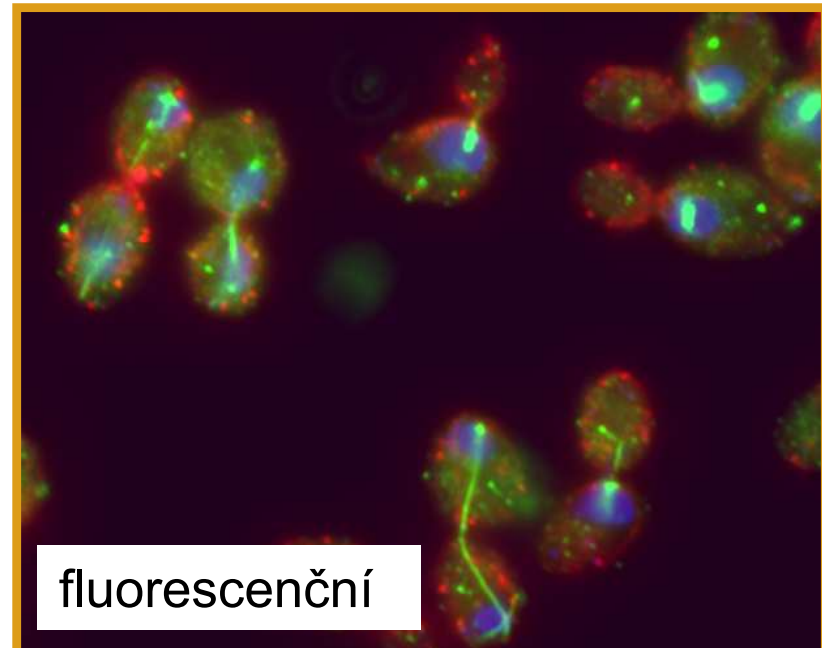
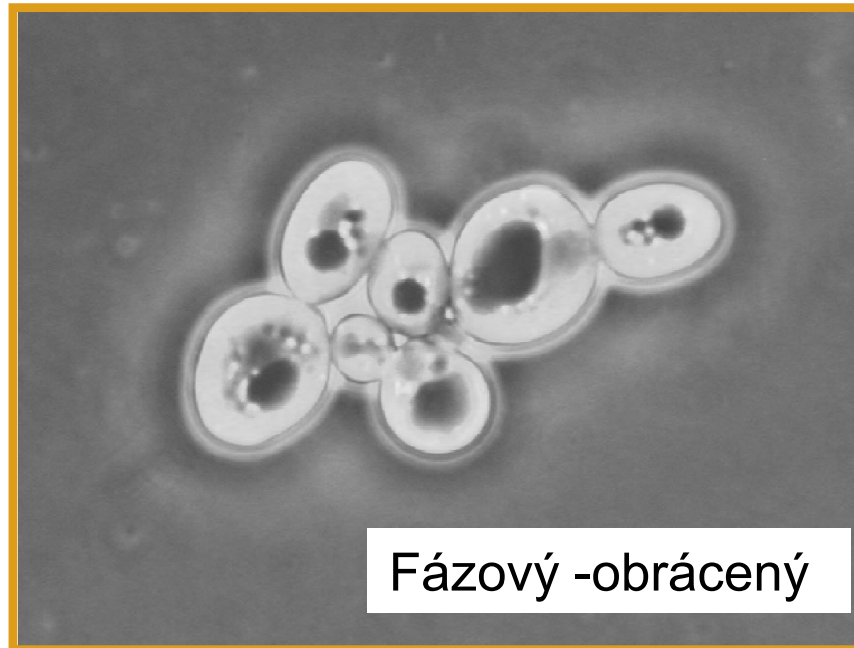
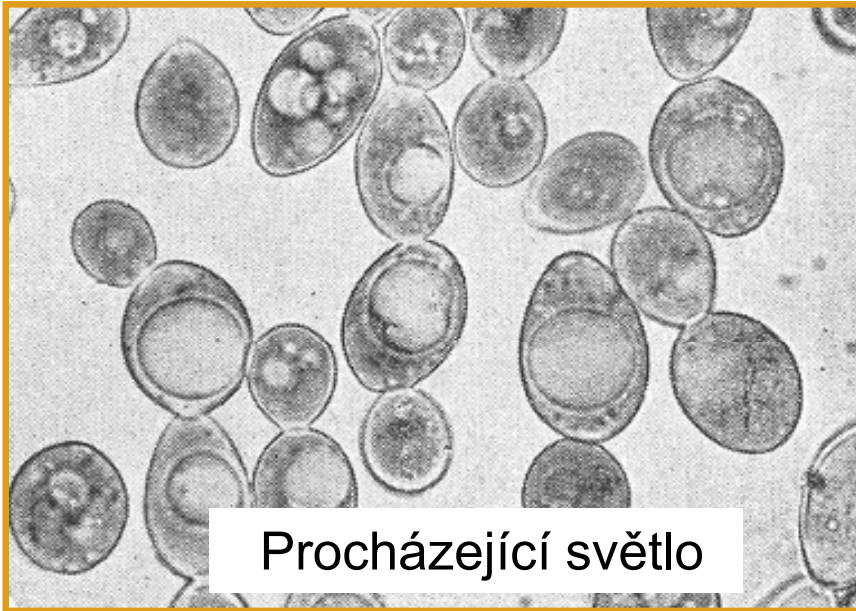
Metodologie genetiky se tedy nezajímá o dědičnost, ale jak se dědičnost zkoumá: metody křížení, cytogenetické postupy, metody molekulární genetiky

Metodologie vědy se rozvíjí většinou
současně s rozvojem poznání v tom kterém
oboru

Např. studium struktury a funkce buňky stimuluje
vývoj příslušných metod

Příklad: mikroskopie v procházejícím světle
fázový kontrast
elektronová mikroskopie
fluorescenční mikroskopie
imunofluorescenční mikroskopie
konfokální mikroskopie

Mikroskopické metody studia kvasinkových buněk – světelný mikroskop



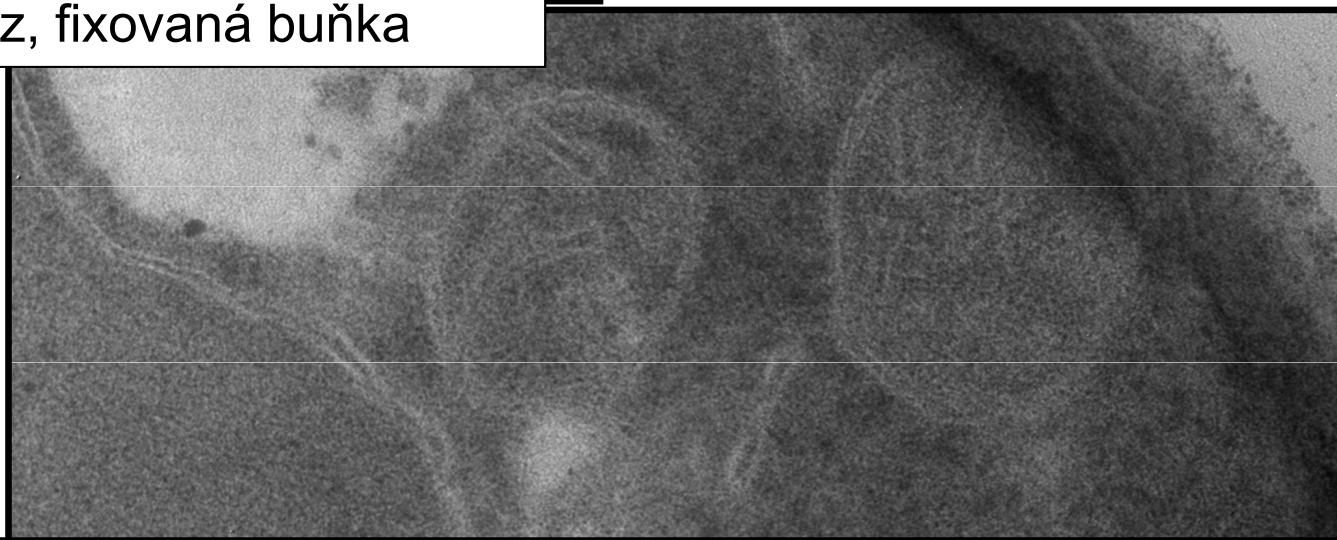
Elektronová mikroskopie kvasinkových buněk



Ultratenký řez, fixovaná buňka



Mrazové lámání, buňka fixovaná reversibilně



Metodologie biologických věd je ovlivněna dvěma specifickými znaky živých soustav, které mají vliv na vědeckou přesnost výpovědí biologických věd:

- systémovost
- proměnlivost a adaptabilita (přizpůsobivost)

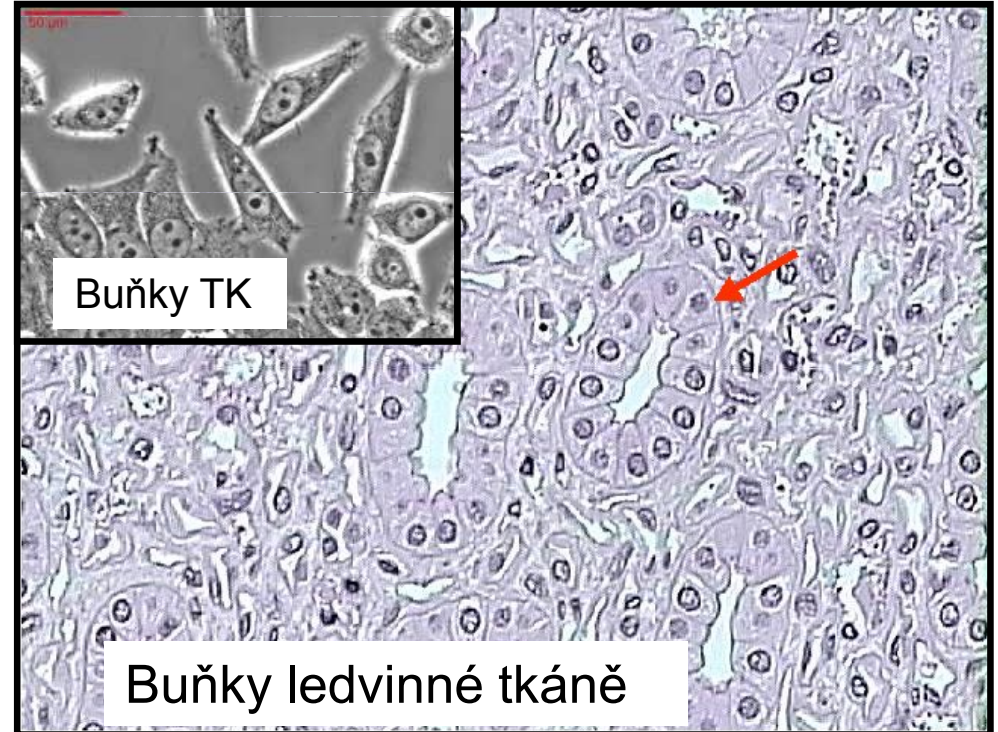
Systemovost:

Každá složka živých soustav je subsystémem výše organizovaného subsystému:

Systemová analýza společenstva

- molekuly
- komplexy molekul
- orgány.
- kompartmenty
- buňky
- tkáně

- orgány
- orgánové soustavy
- jedinec
- populace
- společenstvo



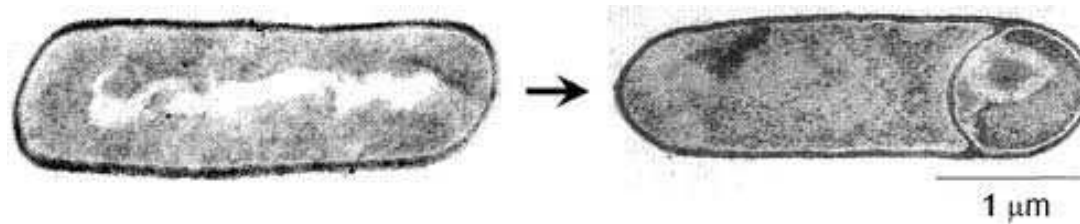
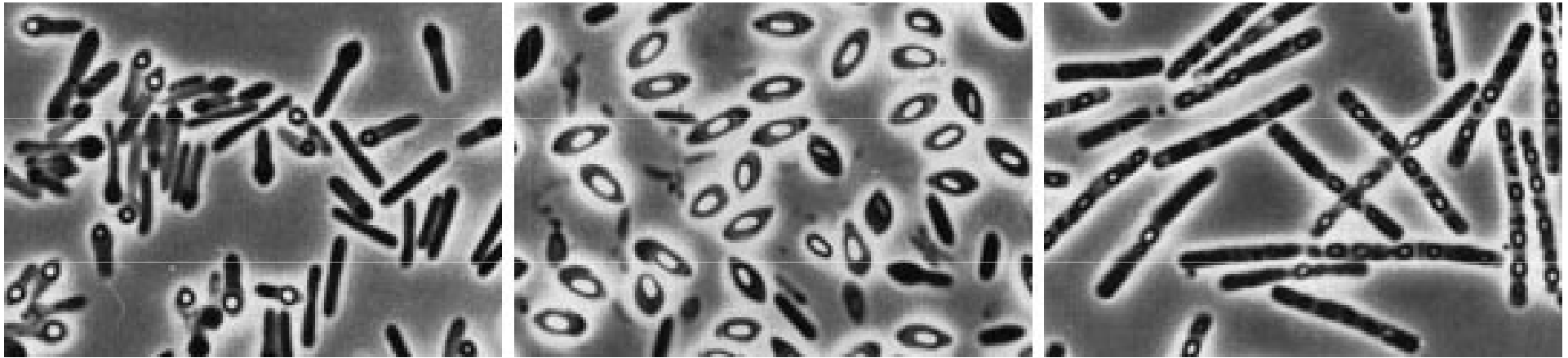
Struktura a chování buňky závisí na jejím okolí – zda je subsystémem tkáně nebo je buňkou samostatnou

2. Proměnlivost a přizpůsobivost (adaptace)

Organismus nebo buňka nemusí reagovat na stejný podnět stejným způsobem, jako např. molekula NaCl, která disociuje vždy na Na + Cl. Živý organismus může v mezích svého genotypu volit některou z alternativ svého chování, své reakce na podnět:

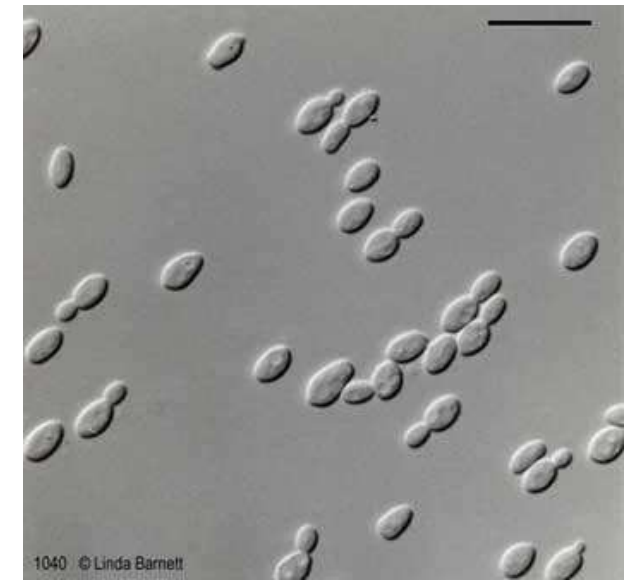
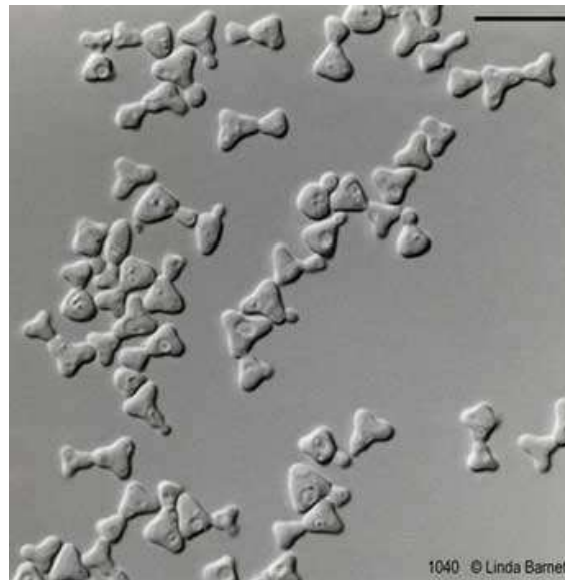
měnit intenzitu, rychlost a směr reakce, přizpůsobit se a učit se..

Sporulace u bakterií v důsledku hladovění



Dimorfismus u kvasinky
Trigonopsis variabilis:
triangulární buňky - v mediu
bohatém na aminokyseliny

Elipsovité buňky – v mediu
chudém



Mnohé děje v živých soustavách jsou z hlediska určité rozlišovací úrovně **deterministické nebo pravděpodobnostní (stochastické)**

(**poznatky**, které určitý děj popisují, jsou pak jednoduše definované nebo jsou to poznatky statistické)

Příklad:

tok genetické informace: DNA → RNA → bílkovina – **děj deterministický**

utváření výšky postavy (170 ± 20 cm) – **děj stochastický**

Poznatek obsahuje informaci o skutečnosti. Může být vyjádřen

- **slovně** (verbálně): slovní tvrzení, závěr z pokusu, hypotéza aj. (*každá buňka obsahuje jádro*)
- **neverbálně** – matematickou rovnicí, grafem, chemickým vzorcem ($Na + Cl = NaCl$)

Základní termíny metodologie biologických věd:

Metoda: způsob poznávání, určený souborem pravidel, kterými se řídíme (elektronová mikroskopie)

Metodika: technika, způsob výkonu určité vědecké činnosti

Např. technika ultratenkých řezů, DNA hybridizace in situ

Objekt - předmět výzkumu.

Objektivní: nalézající se mimo nás, mimo naše vědomí (např. lymfocyty v mikroskopickém preparátu)

Subjekt: člověk a jeho vědomí.

Subjektivní: vlastní člověku a jeho vědomí.

Např. subjektivní chyba v pozorování – popis barvy či tvaru pozorovaného objektu

Vědecký jazyk: množina uspořádaných znaků a termínů, jimiž se vyjadřuje poznaná skutečnost.

Např. věta: *DNA molekula je tvořena dvěma řetězci polynukleotidových řetězců, které jsou spojeny vodíkovými vazbami.*

Termín – odborný název.

např. *chromosom, DNA, mikroskop, PCR*

Pojem je myšlenkový obraz určité skutečnosti vyjádřený termínem

Termín červená krvinka je odborný termín. Krvinka je myšlenkový obraz pozorovaného erytrocytu doplněný o další poznatky, zjištěné studiem

Definice: vyjadřuje nejpodstatnější, nejcharakterističtější a stálé znaky pojmu, které jej odlišují od pojmů ostatních.

Prokaryont je pojem definovaný cirkulárním chromosomem a nepřítomností mitózy.

Bakterie vyhovuje této definici a proto je prokaryont

Gen je úsek polynukleotidového řetězce, nesoucí informaci pro strukturu bílkoviny nebo pro RNA, která nepodléhá translaci

Hypotéza (domněnka) je neověřený výrok, založený na ověřitelných předpokladech.

Příklad: Mitochondrie vznikly endosymbiózou bakterií

Teorie: soubor tvrzení, které popisují a vysvětlují jevy v rozsáhlé oblasti skutečnosti

Příklad: evoluční teorie

Zákon: výpověď, která přesně a jednoznačně vyjadřuje všeobecnou platnost a neměnnost určité skutečnosti

Z hlediska závislosti na vnějších podmínkách se rozlišují zákony **dynamické** a zákony **statistické**

Příklad: Archimedův zákon, Newtonovy zákony – jsou dynamické

Hardyův a Weinbergův zákon o stálém poměru genotypů v populaci – platí za určitých podmínek – zákon statistický

Biologické zákony jsou **statistického charakteru – vztahují se na hromadné jevy**

Skutečnost vnímáme smysly, jejichž účinnost zesilujeme přístroji (mikroskop, elektroforéza).

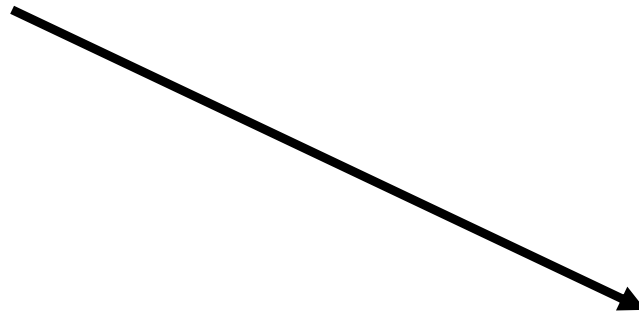
Nové poznatky pak získáváme **empirickými metodami** - pokusem, pozorováním a měřením.

Těmito postupy získáváme **objektivní údaje, data**. Získaná data hodnotíme metodami **teoretickými (logickými)** – indukcí, dedukcí, analýzou, syntézou, srovnáváním

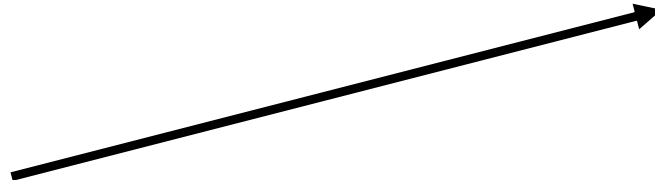
Empirické metody



objektivní údaje



vědecké poznatky



Teoretické metody

Pomocí empirických metod získáváme
objektivní údaje – data

Objektivní údaje: informují o skutečnosti existující nezávisle na subjektu (pozorovateli), takže mohou být kdykoliv a kdekoliv opakovány.

Empirické poznatky jsou založeny na *určitém počtu* pozorování a pokusů

Pozorování:

- soustředěné, záměrné vnímání tvaru a vlastností předmětů a jevů. Je to odraz skutečnosti zprostředkovaný smysly a upřesňovaný pomocí přístrojů.

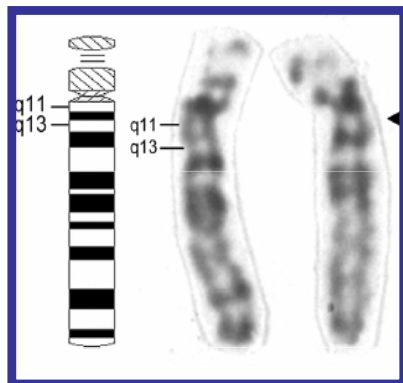
50 let věděli bádatelé, že v jádře lidských buněk jsou chromosomy, než dospěli k správnému závěru o jejich počtu. V r. 1909 – Winniwater zjistil 47 chromosomů, Painter v r. 1933 48 chromosomů a správný počet – 46 byl zjištěn teprve v r. 1955 (Hansen – Melanderová) a definitivně potvrzen v r. 1960

Pozorování zahrnuje **subjektivní i objektivní chyby**.

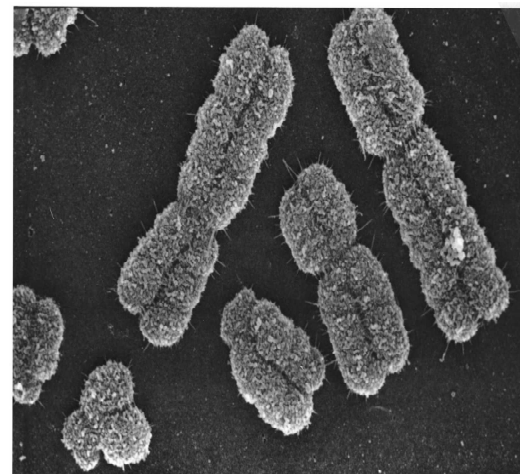
Chromosomy v lidských buňkách



Chromosomy značené technikou FISH



Metoda proužkování chromosomů



Mitotické chromosomy v elektronovém mikroskopu

Měření: určování kvantitativních vlastností biologických objektů

rozměry, počty - výška, váha, tepová frekvence, počty krevních buněk atd.

Upřesňuje se pomocí přístrojů

Bürkerova komůrka se nahrazuje různými cytometry podobně jako hladiny různých molekul v plasmě – nikoliv např. vážením ale sofistikovanými přístroji

Experimentování

– pozorování nebo měření za podmínek, které určuje výzkumný pracovník

Má 2 podoby:

- buď **měníme jednu z vnějších podmínek** nebo působíme novým faktorem

(promýváme červené krvinky od plasmy- vodou nebo solným roztokem a pozorujeme změnu tvaru ery.)

- nebo zevní podmínky zůstávají stejné a **měníme určité vlastnosti objektu**

(nejprve ozařujeme určitou dávkou záření mladé krysy a pak staré, nebo samce a pak samičky)

Kontrolní pokus:

probíhá současně s vlastním pokusem .
Nepůsobíme vlastním faktorem ale např.
neutrálním.

Účinek antibiotika na bakterie – antibiotikum je
rozpuštěno v metanolu a tak v kontrolním pokuse
zjišťujeme, zda samotný metanol nepůsobí na bakterie

Pokus heuristický – odpovídáme na otázku: co se stane, když...

Pokus ověřovací - stane se skutečně to, když udělám to a to...?

*Např. Fleming si všiml, že kolonie bakterií se neobjevují v blízkosti kolonií plísně *Penicilium notatum*“, zjišťoval pak, jak na bakterie působí lyzát plísní*

Když zjišťujeme citlivost izolovaného bakteriálního kmene na paletu antibiotik, děláme zpravidla ověřovací pokus

Schema pokusu

1. Studium literatury
2. formulace problému (otázky)
3. zvolení metodiky, materiálu
4. provedení pokusu a zjišťování výsledků
5. hodnocení výsledků
6. závěr – vlastní odpověď na položenou otázku

Např. podstata krevních skupin systému AB0

Teoretické (logické) metody

Údaje zjištěné empirickými metodami – empirické výsledky – jsou pouze výchozím materiálem, který se dále zpracovává teoretickými (logickými) metodami.

Žádná empirická věda se nemůže spokojit pouze s registrováním poznatků. Pomocí logických metod z nich vyvozuje obecněji platné závěry.

Vědecké poznání používá dva logické postupy pro další zpracování dat: **indukce a dedukce**

V konkrétní aplikaci se oba postupy doplňují a hovoříme o **induktivně – deduktivní metodě vědy**

Indukce:

vyvozování závěrů z jednotlivých méně obecných dat:

Induktivní postup probíhá podle schématu:

- 1. Hodnocení dat získaných pozorováním a pokusy*
- 2. Předběžné zhodnocení výsledků v podobě pracovní hypotézy*
- 3. Ověřování hypotézy novým pozorováním a pokusy*
- 4. vyvození obecného závěru případně stanovení zákona*

Příklad: Buněčná teorie, Rozdělení buněk na prokaryota a eukaryota

Dedukce

– logický postup, kdy vyvozujeme z obecných předpokladů závěry jiné obecné závěry nebo i dílčí závěry , které se vztahují na jednotlivé případy

Příklad: V 19. stol. mikrobiologie prokázala bakteriální původce některých chorob a induktivně bylo zobecněno, že všechny choroby určitého typu jsou vyvolány bakteriemi. Deduktivním postupem bylo usuzováno, že bakterie jsou původcem i dalších infekčních chorob. To bylo u některých chorob potvrzeno, u jiných chorob se našly jiné mikroorganismy plísně, prvoci, resp. virusy

Při induktivně deduktivních postupech se uplatňují i další méně obecné metody:

Metoda srovnávání

Analýza a syntéza

Analogická metoda

Modely a modelování

Modelové organismy: zvířata, tkáně, buňky

Zákony, hypotézy a teorie

Vztahy mezi poznanými vědeckými poznatky mají různý charakter, který vyjadřujeme uvedenými termíny.

Zákon, vědecký zákon, vyjadřuje určitý, konstantní vztah mezi věcmi a procesy v určité oblasti skutečnosti, který vyplývá z jejich struktury a uspořádání a který se projevuje v jejich interakci.

Vědecký zákon vyžaduje přesnou formulaci z přesných dat.

V přírodních vědách existují 2 typy zákonů

zákony dynamické (podmínky relativně stálé, nezávislé na jiných:

Newtonovy zákony pohybu těles ve sluneční soustavě, Archimedův zákon)

zákony statistické – vztahují se na hromadné jevy v celku, neplatí pro jednotlivé případy hromadného jevu.

Mendlovy zákony: při křížení homozygotů se objeví znaky homozygotních rodičů v poměru 3:1, dědičnost pohlaví 1:1

Metody vyhodnocování vědeckých fakt

Variabilita (proměnlivost živých organismů je příčinou nejednoznačné odpovědi v pozorování a pokuse

Při měření hodnoty určitého znaku (výšky postavy) v souboru jedinců dostaneme množinu dat, které se pohybují v určitém rozsahu. Tuto variabilitu lze měřit statistickými postupy:

- Měření průměrných hodnot
- Charakteristiky variability

Průměrné hodnoty:

Aritmetický průměr je dán vztahem:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

n ... počet provedených paralelních měření sledované veličiny

x_i ... naměřená hodnota sledované veličiny pro i -té měření

medián - střední hodnota z výběru seřazeného podle velikosti - při jeho určení z velkého souboru dat zcela ztrácíme informace obsažené ve všech výsledcích kromě jednoho či dvou výsledků

modus – nejčastější hodnota znaku

Směrodatná odchylka

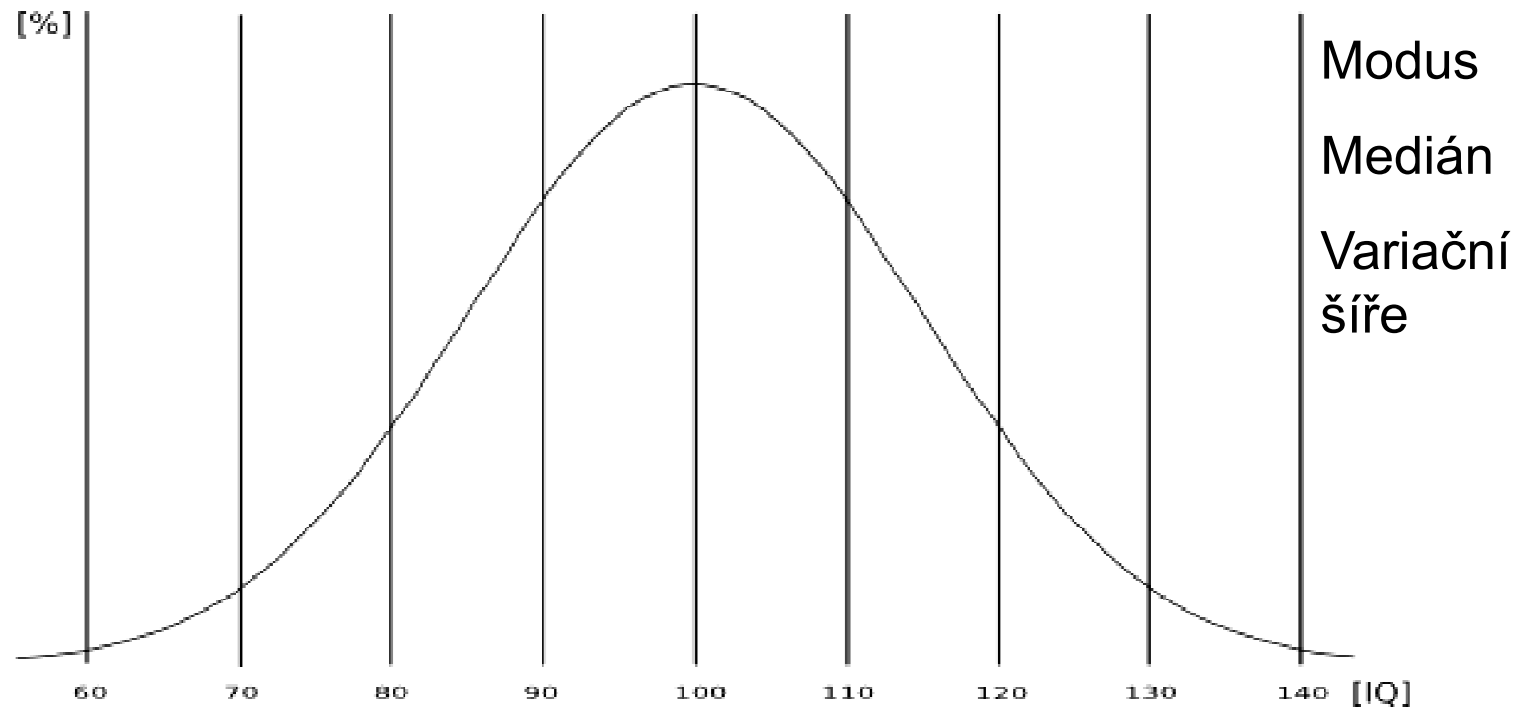
Směrodatná odchylka je jednou z nejpoužívanějších měr kolísavosti výkonnosti fondu. Vyjadřuje rozptyl hodnot kolem střední hodnoty, tj. vypovídá o tom, jak se hodnoty od této střední hodnoty (průměru) liší, resp. jak hustě jsou kolem tohoto průměru seskupeny.

Obecně se vypočítá dle vzorce:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

kde x_i je hodnota i -tého pozorování, n je počet pozorování a \bar{x} je průměrná hodnota všech pozorování

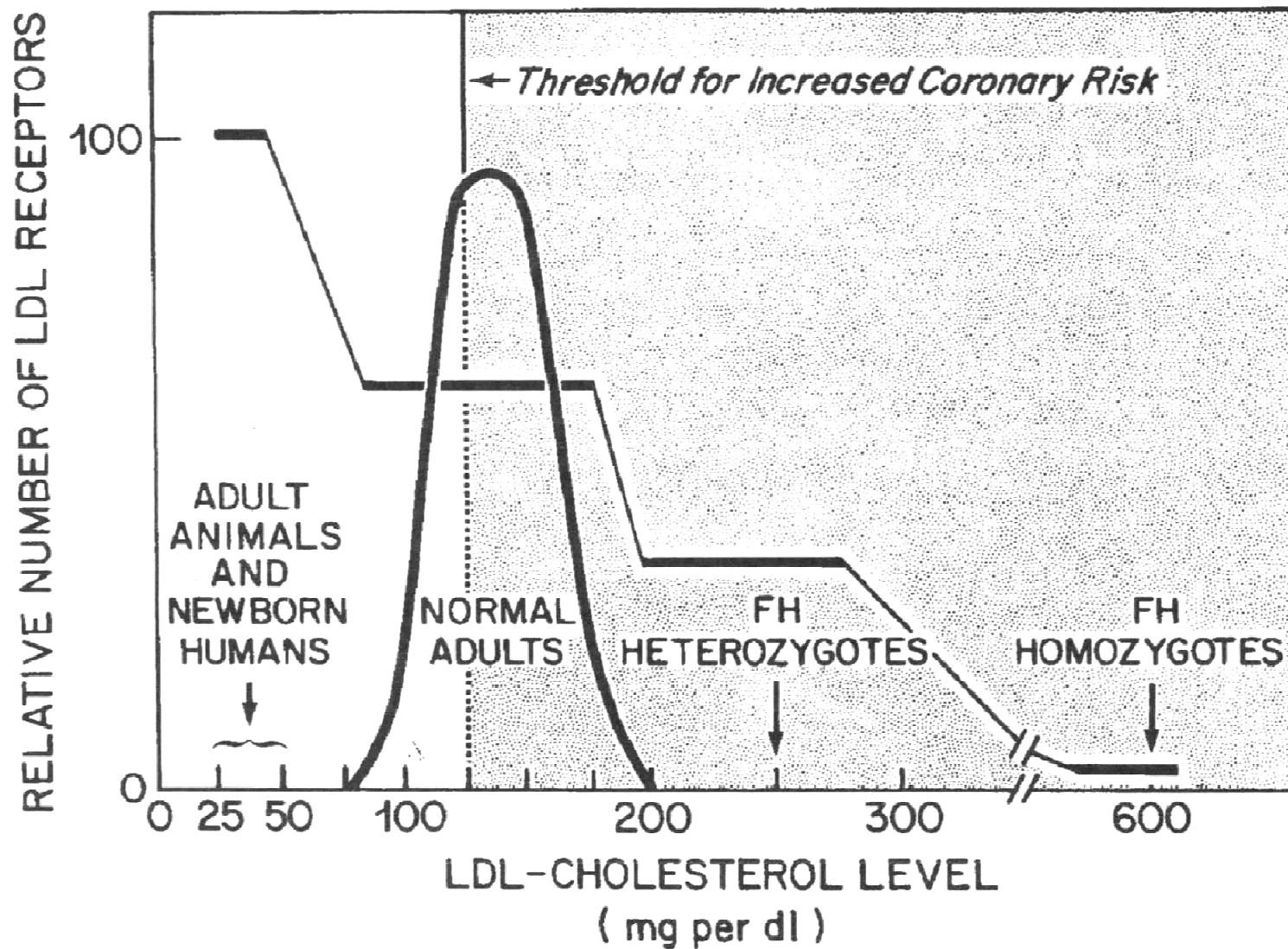
Gaussova křivka - rozložení IQ v populaci



Gaussova křivka

Gaussova křivka – křivka charakterizující normální rozdělení statistické veličiny, tj. např. některých kvantitativních znaků v populaci výšky, tlaku krve aj.. Má charakteristický „zvonovitý“ tvar s maximem výskytu průměrných veličin a s poklesem směrem k oběma extrémům

Hladina cholesterolu u zdravých lidí a lidí se zvýšeným rizikem arteriosklerózy



Při všech měřeních vznikají chyby, jimiž jsou výsledky zatíženy

Chyby se dělí na:

chyby náhodné - vyskytují se nepravidelně, lze je statisticky vyhodnotit

chyby systematické - lze je předvídat a vypočítat, provést korekci výsledků

chyby hrubé - lze jim zabránit pečlivou prací

Systematické chyby se nejčastěji dělí podle svých zdrojů na:

chyby přístrojů - všechna zařízení mají určitou konečnou hranici přesnosti

chyby chemikálií - všechny chemikálie obsahují určitá malá množství nečistot

chyby metod - způsobené například určitou rozpustností sraženiny

chyby subjektivní - způsobené například špatným odečtem spotřeby na byretě

Nevědecké (alternativní) přístupy v medicíně

Homeopatie

Akupunktura

Jiné metody léčitelství a diagnostiky

Psychotronika, aurikulodiagnostika,
iridodiagnostika aj

Homeopatie je založena přibližně na deseti principech. Mezi nejdůležitější z nich patří

- Léčba podobného podobným (*similia similibus curentur*)
- Velmi malé dávky, případně až princip nekonečně malého dávkování resp. infinitezimálního ředění
- Metody a léčiva se volí podle příznaků bez zkoumání patologických procesů Účinky přípravků musí být testovány na zdravých lidech, protože na nemocných je nelze rozlišit od projevů nemoci
- Skeptický výkladový slovník (J.Heřt) označuje homeopatii za absurdní výmysl, který dnes nemá žádné opodstatnění, její principy jsou v příkrém rozporu s přírodními zákony i s vědeckými poznatky a lze je snadno vyvrátit věcnými i logickými argumenty

Happening 10:23

30. ledna 2010 v 10:23 uspořádali britští skeptici po celé Anglii protestní happening 10:23, během kterého se veřejně "předávkovali" údajně velmi silnými homeopatickými léky - demonstrativně spolkli celé balení (až 100 cukrových tabletek). Bez jakýchkoli účinků.

Empiricky tak prokázali neexistenci proklamovaných účinků.

Akupunktura je léčebná metoda, která patří do systému tradiční čínské medicíny.

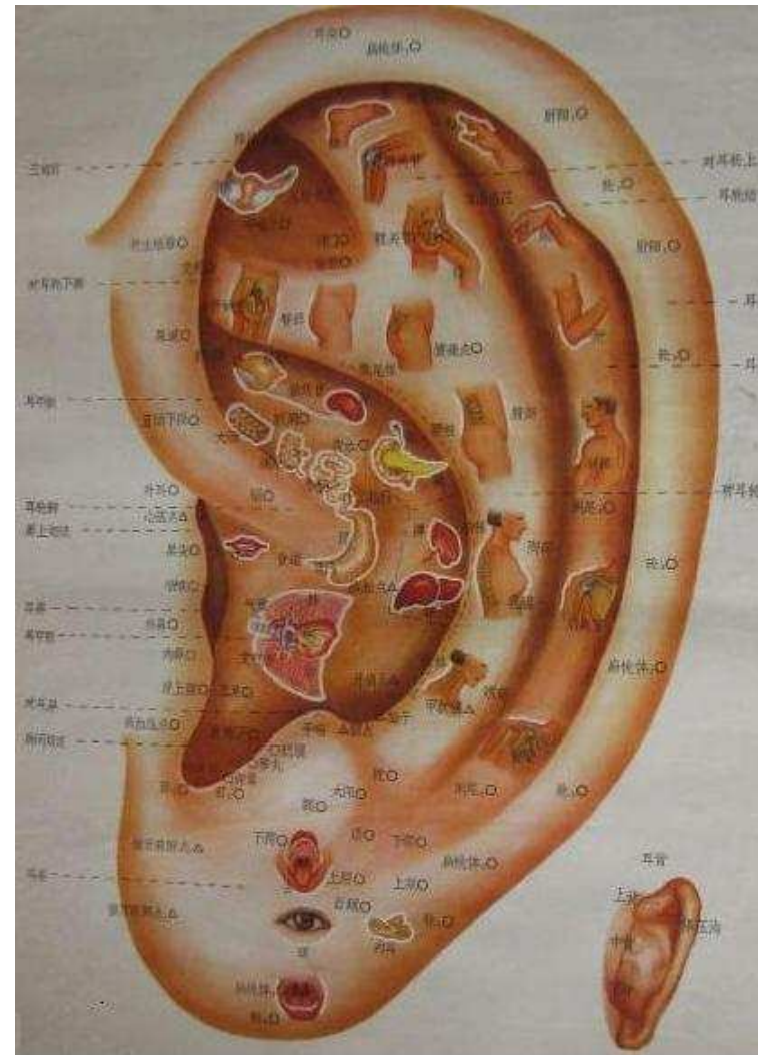
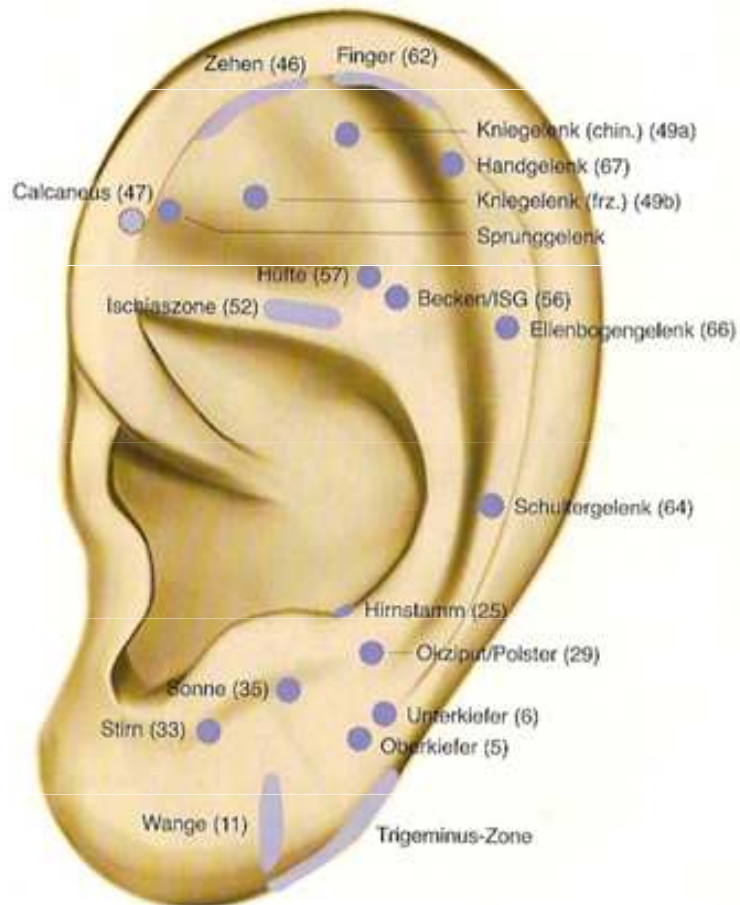
Jedná se o nabodávání jehel do akupunkturálních bodů na lidském těle. Podle tradiční čínské nauky leží tyto body na akupunkturálních drahách neboli drahách energie, tzv. meridiánech. Těmi podle této nauky proudí životní energie čchi a jsou spojeny s jednotlivými orgány. Akupunktura se snaží předcházet nerovnováze v toku této hypotetické energie a odstraňovat ji.

Vědecky se dosud nikdy nepodařilo prokázat existenci akupunkturálních bodů a drah.

Aurikulodiagnostika

Na povrchu boltce lze najít aktivní body o velikosti asi 0,2 mm, které odpovídají tělesným orgánům. Drážděním těchto bodů lze orgány aktivovat, zklidňovat atd.

Organ- bzw. Korrespondenzpunkte
Bewegungssystem und Kopf



Irisdiagnostik:projekce orgánů lidského těla do duhovky

Změny barvy a struktury duhovky mohou upozornit na nemocný orgán a na povahu jeho postižení

