

# HAYVAN DENEYLERİ NASIL YAPILMALIDIR?

Özgür KASIMAY, Dr., Berrak Ç. YEĞEN, Prof. Dr.  
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

**H**ayvan deneylerine ait ilk bulguların Eski Yunan ve Roma'ya kadar dayandığı ve hayvanların yaklaşık 2000 yıldır çeşitli çalışmalarda kullanıldığı bilinmektedir. Hipokrat, (M.Ö. 350) yutma mekanizmasını incelemek amacıyla domuzun boğazının nasıl kesildiğini tarif etmiştir. Üçüncü yüzyılda da *Erasistraus of Alexandria* vücut fonksiyonları üzerine olan çalışmalarında hayvanları kullanmıştır; fakat deneysel fizyolojinin asıl kurucusu olarak Galen kabul edilmektedir. Galen, havanın değil de, venlerin kanı taşıdığını ispatlayan teorisini maymunlar ve domuzlar üzerinde çalışarak geliştirmiştir. İkinci Dünya Savaşı yıllarında farmasötik endüstrinin gelişimi ile ortaya çıkan LD<sub>50</sub> ve *Draize irritans* testleri nedeniyle çok sayıda deney hayvanı kullanılmaya başlanmıştır.

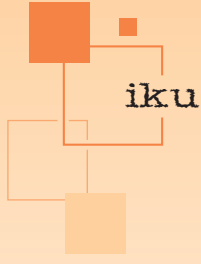
Hayvan çalışmalarına karşı görüşler ise Avrupa'da 400 seneden beri görülmektedir. Rene Descartes (1596-1650), düşünme yeteneği olmayan hayvanların makinalara benzediklerini söyleyerek hayvan çalışmalarını desteklediği halde, başka bir filozof, Jeremy Bentham, bugün hala üzerinde konuşulmakta olan

yazısında (1789), hayvan çalışmaları hakkında sorulması gerekenin "hayvanların konuşup, konuşmadıkları veya soru sorup, sormadıklarının ötesinde, yaşam mücadelesi vermeye çalışıp çalışmadıkları" olduğu görüşünü savunmuştur. Gerçek anlamda bilimsel devrim 17. ve 18. yüzyılda gerçekleşmiş ve 19. yüzyılın başlarında hayvan çalışmaları daha organize olup, bilimin sistematik bir parçası haline gelmiştir. Bu ilerlemelerle beraber hayvan çalışmalarına karşı görüşler de daha fazla ses çıkarır hale gelmiştir. Özellikle İngiltere başta olmak üzere batı ülkelerinde hayvan araştırmalarına karşı gruplar sistematik, zarar verici eylemlerde ve girişimlerde bulunmaktadırlar. Bilim adamları hayvan hakları savunucuları tarafından saldırıya uğramışlar, araştırmacılar ve yakınlarına yasadışı saldırılar düzenlenmiştir.

Bilimsel toplum "yaşam"ı anlamayı, iyileştirmeyi, desteklemeyi ve ıstırabı ortadan kaldırmayı amaçladığına göre, hayvan kullanılarak yapılan tıp araştırmaları devam etmelidir. Ancak, deneysel tasarım, en insani

1901 yılında ABD'de difteriye karşı antitoksin geliştirmek üzere deneylerde Jim isimli bir at kullanılmış, antitoksin verilen 13 çocuğun ölmesi üzerine atta tetanoz bulunduğu ve antitoksinin bozulduğu farkedilmiştir. Bu trajedinin ardından konuyla ilgili yasal düzenlemelere ağırlık verilmiştir.





Tarih boyunca hayvan deneylerine bağlı gelişmeler.

1600	Kan dolaşımının keşfi.
1700	Kan basıncının ölçülmesi.
1800	İnfeksiyon hastalıkları hakkında bilgi edinilmesi.
1900	Antikorların bulunuşu.
1920	İnsulin, Vitamin B1, Vitamin B2, Vitamin E'nin bulunuşu.
1930	Vitamin D ve K'nın bulunuşu. Modern anesteziğin gelişimi.
1950	Açık kalp cerrahisi ve kalp pilinin bulunuşu. Kanser kemoterapisinin gelişimi.

uygulamalarla, bilimsel gerçekliği tehlikeye atmadan deneyleri gerçekleştirmeyi garanti etmelidir. Bu nedenlerle, Avrupa Topluluğu “*hayvanların ağrı, rahatsızlık, ızdırap veya fiziksel zarar görebileceği bir deney veya bilimsel amaç için kullanılmayacağı*”nı “**Omurgalı hayvanların deneysel ve diğer bilimsel amaçlarla kullanılması**” adlı kararında açıklığa kavuşturmuştur (20 Eylül 1985, Strasburg). Bu karara göre, insanları hastalıklardan koruma ile hastalıkların tanı ve tedavisini geliştirme yöntemlerinin araştırılması, insanda normal fizyolojik mekanizmaların araştırılması, çevrenin korunması, bilimsel araştırma yapılması, eğitim ve öğretim amaçlı çalışma yapılması, adli soruşturma nedeniyle çalışma yapılması haricinde hayvan çalışmalarına izin verilmeyecektir.

Henüz bulunmamış tedavileri geliştirmek için veya daha iyi bir ilaç bulmak için ilaç üreticileri ve diğer araştırmacı kuruluşlar sürekli çaba göstermektedirler. Sentez edilen veya doğal kaynaklardan çıkarılan maddeler ya da rekombinant DNA teknolojisiyle elde edilen biyoteknoloji ürünleri önce tarama testlerinden geçirilir. İlacın öngörülen tedavi edici etkisini veya toksisitesini ortaya koyan basit *in vitro* deney sistemleri veya tarama modelleri kullanılır. Daha sonra uygun görülen maddeler *in vivo* deney hayvanı modellerinde ayrıntılı bir şekilde incelenir. Ayrıca maddelerin toksisitesi, terapötik indeksi, farmokokinetik özellikleri de incelenmiş olur. Bu

çalışmalar **Faz 0** çalışması olup, klinik öncesi incelemeleri içermektedir. Ancak bundan sonra klinik protokollerin hazırlanıp, etik kurul onayı alındıktan sonra ilaçların insanlar üzerinde denendiği **Faz I** çalışmaları aşamasına geçilebilir.

Bir araştırma planlarken, araştırmacı öncelikle hayvan kullanımını yerine hayvan gerektirmeyen metodları kullanmayı düşünmelidir. Hayvan kullanımını yerine uygun bir alternatif bulunamıyor ve araştırmada deney hayvanı kullanımı gerekiyorsa, o zaman da

deney hayvanının etik kurallar doğrultusunda kullanılmasına özen gösterilmelidir **Alternatifler**, medikal ve bilimsel çalışmalarda kullanılacak hayvanların sayısını azaltacak ve olabilecek çalışmalarda başka tekniklerin kullanımına izin verecek yol göstericilerdir. Bu görüş açısı William Russell ve Rex Burch'un 1959 yılında “İnsan Deneysel Tekniklerinin Kuralları” adlı yapıtında bahsedilen 3R kuralı şeklinde doğmuş, daha sonra 4. kural eklenmiştir. Bu kurallar şöyledir:

- 1 **Refine:** yöntemi ıslah etmek,
- 2 **Reduce:** hayvan sayısını azaltmak,
- 3 **Replace:** mevcut yöntem yerine ağrısız yöntem uygulamak,
- 4 **Responsibility:** sorumluluklarını bilmek.

**Refinement**, laboratuvar hayvanlarının doğumundan ölümüne kadar olan süre boyunca

ağrılarını en aza indirip, iyi hallerini arttırmayı amaçlamaktadır. Hayvanların iyi hallerine önem vermek sadece etik açıdan değil, iyi bir bilimsel çalışma çıkarabilmek için de şarttır.

Gerek ağrı, gerekse de diğer stres unsurları fizyolojik değişikliklere neden olacaklardır ve bunlar da deney sonuçlarının değişkenliğini arttıracaktır. Bu yüzden, bir bilim adamı için hayvanların barınacakları yerdeki şartların mümkün olduğunca iyi olması çok önemlidir. Bu, fazla harcama yapılması anlamına gelmemektedir. Basit araç ve gereçler ile kafesteki hayvanların yaşam ortamlarını zenginleştirmek mümkündür. Laboratuvar personelinin iyi eğitilmiş olması, hayvanlarla çalışabilecek yetenekte olması, kullanılan türlerle çalışırken rahat olması ve onlara doğru şekilde davranması önemlidir.

Gerekli olduğu zaman anestezi ve analjezikler kullanılmalıdır. Hem hayvanlara verilen sıkıntıyı, hem de çalışma süresini en aza indirmek için **en az invaziv olan ve en çabuk sonuç veren yöntem** seçilmelidir. Çalışmanın sonunda ise yine **en hızlı** bilinç kaybına neden olan ötanazi metodu seçilmelidir.

**Reduction**, aynı bilgiyi elde etmek için kullanılacak en az sayıda hayvanı ifade etmektedir. Ayrıca, tek bir hayvandan elde edilen bilgileri arttıracak yöntemler geliştirmeyi ve fazladan hayvan kullanımını ortadan kaldırmayı da içermektedir. Bunu sağlamak için çeşitli yollar geliştirilmiştir. Bu amaçla, bir araştırmacı herhangi

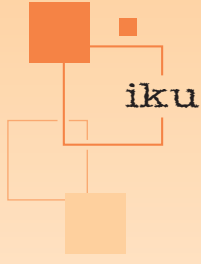
bir doku üzerinde çalışırken, başka araştırmacıların da diğer dokuları almasını sağlayarak toplam hayvan kullanımının azaltılmasına çalışmalıdır. Dikkat edilecek bir başka nokta ise, deneylere başlamadan önce küçük bir pilot çalışma yapmak ve gerçek deneyin uygulanabilirliği hakkında bilgi kazanmak, düzeltilebilir yanlışlıklar nedeniyle gereksiz hayvan tüketimini azaltmaktır. Hatta bazı durumlarda yapılan pilot çalışma, *in vitro* sistem kullanmanın daha uygun olacağını anlaşılmasını sağlayacaktır.

**Replacement** kavramı, canlı hayvanların herhangi bir deney sisteminin yeterli olmadığı durumlarda alternatif olarak düşünölmeleri gerektiğini kapsamaktadır. *In vitro* çalışmalarda kullanılmak için yine hayvanları öldürerek elde edilen hücreler, dokular, organlar bu çalışmaların bir kısmını oluşturmaktadır. Fakat, gelişmiş omurgalıların hiçbir biyolojik materyalinin kullanılmadığı başka alternatifler de vardır. İlaç sanayiinde yeni ilaç içeriklerinin oluşturulması, etkinlik ve toksisitelerinin gösterilmesi için yeni yöntemler kullanılmaktadır. Bu alternatif yöntemler, bilgisayar bazlı sistemler ile fizyokimyasal tekniklerin, düşük yapılı organizma ve embriyoların kullanılması, insan çalışmalarına (retrospektif, prospektif, epidemiyolojik) yer verilmesi ve hücre, doku, organ kültürlerinin kullanılması gibi yöntemleri içermektedir.

**Responsibility**, yapılacak çalışmanın sorumluluğunu

Tarih boyunca hayvan deneylerine bağlı gelişmeler.

- |      |   |
|------|---|
| 1960 | Monoklonal antikorların keşfi. Antipsikotik ve antidepresan ilaçların bulunuşu.                                   |
| 1970 | Kızamığın önlenmesi.  |
| 1980 | Gen tedavisinin gelişimi. Alzheimer hastalığına dair yeni çalışmalar. AIDS' de virusların rolüne dair çalışmalar. |
| 1999 | COX-2 inhibitörlerinin bulunuşu.  |
| 2002 | Multipl skleroz için sitokin tedavisi gelişimi.   |



alabilmeyi, hayvanların bakımını yapabilmeyi, çalışmanın herhangi bir aşamasında çıkacak problemleri çözebilecek yeteneğe sahip olmayı kapsamaktadır. Hayvan çalışmalarında, önem verilmesi gereken konulardan biri de çalışmada kullanılan hayvanların hastalıklarının önlenmesidir. Etkili hastalık önleyici ilaç programları çalışmanın değerini arttırırken, sağlıklı hayvanların elde bulundurulması protokol dışı serilerin kullanılmasını en aza indirmektedir. Bunu sağlamak için çeşitli aşılar kullanılabilir. Hayvanlar karantinaya alınabilir, türlerine, cinslerine, sağlık durumlarına göre ayrılabilirler. Çünkü bazı enfeksiyon ajanları bazı türlerde subklinik enfeksiyona neden olurken, bazılarında ciddi hastalık oluşturmaktadır. Bütün hayvanların hastalık belirtileri veya normal dışı davranışlar gösterip göstermedikleri değerlendirilmelidir. Hayvanlar hergün kontrol edilmelidirler. Operasyon sonrası iyileşme dönemleri özenle izlenmelidir. Deney hayvanlarının barındırıldığı ortamın ısısı, nemi, havanın kompozisyonu ve havalandırması hayvana özgü olmalıdır.

## **DENEY HAYVANININ SEÇİMİ**

Çalışmada kullanılacak hayvan türünün seçimi daha önceki çalışmalardan elde edilen bilgiler ışığında o hayvana özgü anatomik ve fizyolojik özellikler göz önünde tutularak yapılmalıdır. En önemli noktalardan biri de o hayvandan elde edilen sonuçların kliniğe uygulanıp anlamda

uygulanamayacağıdır. Çalışmanın amacına uygun hayvan türü seçildikten sonra, sıra kaç hayvan kullanılması gerektiğine gelir. Eğer çok az sayıda hayvan kullanılırsa sonuçlar güvenilir olmaz; bu da çalışmanın tekrarlanmasına neden olur ki, sonuç olarak gereğinden fazla hayvan kullanılmış olur. Çok fazla sayıda hayvan kullanılmasının ise sonuçlarımızın güvenilirliğine bir katkısı olmayacağı gibi, gereksiz yere fazla sayıda hayvan kullanılmış veya öldürülmüş olacaktır. Bu yüzden yapılması gereken, doğru sayıda hayvan kullanmaktır. Deney hayvanlarının türü büyüdükçe (kemirgen yerine köpek, koyun) kullanılacak hayvan sayısı azaltılabilir. Çalışmanın öncesinde bir pilot çalışma yapılarak anestezi madde ve cerrahi yöntem denenmelidir.

Seçilen hayvanların cinsiyeti bazen çalışmaya özgü bir spesifite gösterebilir. Dişi hayvanların menstruasyon dönemleri de gözönüne alınmalıdır. Bazı hormon çalışmalarında sadece dişi hayvanlar veya sadece erkek hayvanlar tercih edilirken, bazı çalışmalarda her iki cinsiyet de kullanılmaktadır. Çalışmada cinsiyete ilişkin bir özellik yoksa, her iki cinsiyetten kullanmaya özen gösterilmelidir.

## **DENEY HAYVANINA UYGULANACAK İŞLEMLER**

Hayvanlara yapılacak cerrahi işlem öncesinde ağrıyı önlemek için genel ya da lokal anestezi uygulanmalıdır; çünkü ağrı, stres yapıcı bir etkidir.

Ortadan kaldırılmazsa hoş olmayan sonuçlara neden olabilir ve etik çalışma modelinin dışına çıkmış olur. Analjezik, anestezi, nöromusküler blokerler, sedatifler, anksiyolitikler hayvan çalışmalarında kullanılan ilaçlara örneklerdir. Hayvanlara uygulanacak cerrahi, bir cerrahi ekip varlığında gerçekleştirilir. Bu ekip; cerrah, anestezi, veteriner, cerrahi teknisyen, hayvan koruma personeli ve gözlemciden oluşur. Tek bir araştırmacı bunları yapmak durumunda ise, tüm görevleri üstlenmelidir. Amaç, iyi bir cerrahi teknikle, aseptik koşullarda, minimal doku diseksiyonu yapılarak, cerrahi alet ve sütür materyalinin doğru şekilde kullanımıyla etkili hemostaz sağlanmasıdır. Cerrahi sonrası iyi bir post-operatif bakım yapılmalıdır. Analjeziye ve yara iyileşmesine özen gösterilmelidir. Hayvan çalışmasında travma içeren bir yöntem (yanık, kırık) kullanılması söz konusu ise, mutlaka anestezi yapılmalıdır. Nöromusküler bloker kullanımı sonucu duyu kaybı olmadan paralizi olduğu için bu ilaçlar anesteziyle beraber kullanılmalıdır. Cerrahi içeren bir çalışmada kullanılmış olan ve minimum ağrı ve rahatsızlıktan daha fazlasına maruz kalmış olan bir deney hayvanının, bilimsel bir gereklilik olmadığı sürece başka bir çalışmada kullanılmayacağı unutulmamalıdır.

Ötanazi, hayvanların ağrı ve acı çekmeden en kısa sürede öldürülmesidir. Çalışmanın protokolünde ötanazi kriterleri belirtilmelidir. Çalışmanın protokolü gereği gelişebilecek komplikasyonlar gözönüne

alınarak, hayvanın daha fazla acı çekmemesine yönelik sınırlar tespit edilmelidir. Bu amaçla, fiziksel ve davranış bozukluğu derecesi (kilo kaybı, düşkünlük), tümörün büyüklüğü gibi kriterler saptanabilir. Ötanazi için genelde inhalasyon ajanları (halotan, CO<sub>2</sub>) veya yüksek doz kimyasal ajanlar (barbitüratlar) ve fiziksel yöntemler (servikal dislokasyon, dekapitasyon) tercih edilmektedir. Ötanazi sonrası hayvanların doku ve organları araştırmacılar arasında çalışmalarda kullanılmak üzere paylaşılmalıdır. Çalışma sonucunda açığa çıkan organik atıklar tıbbi atık torbalarında biriktirilmelidirler. Kontamine yerleri temizlemek için kullanılan malzemeler de otoklavda sterilize edilmeden kesinlikle normal çöpe atılmamalıdır.

Her yıl milyonlarca insan, hayvan çalışmalarıyla geliştirilmiş olan ameliyatlardan yarar sağlamaktadır. Birçok sistemik hastalığın ya da enfeksiyon hastalığının bugünkü tedavi yaklaşımları hayvan deneylerine dayanmaktadır. Günümüzde çözüm bekleyen pek çok hastalık bulunduğuna göre ve henüz tümüyle hayvan deneylerinin yerine konacak alternatifler geliştirilemediği için, insanlığın yararlandığı hayvan çalışmalarına "devam" demekten başka bir bilimsel yaklaşım düşünülmemelidir. Ancak, bu çalışmalarda etik kurallara uygunluğa gereken duyarlılık gösterilmelidir.

#### KAYNAKLAR

Day N. The history of animal experimentation. The Ethical Issues Animal Experimentation, 35-49.

Major discoveries of physiology and biomedical research: The Science of Life, 16.

Major advances in basic research that depended on animal experiments: Biomedical research: 3.

Major medical advances which depended on animal research: Biomedical research: 3.

Alternatives: Frame Home, 1-11.

The three Rs: RDS (Research Defence Society), 1-3.

Some major medical advances that depended on animal research: RDS (Research Defence Society), 1-3.

National Research Council: Surgery: Guide for the care and use of laboratory animals: 60-64.

National Research Council: Preventive Medicine: Guide for the care and use of laboratory animals. 57-9.

National Research Council: Pain, Analgesia, and Anesthesia: Guide for the care and use of laboratory animals. 64-5.

National Research Council: Euthanasia: Guide for the care and use of laboratory animals. 65-6.

Deney Hayvanı Kullanımı ve Etik Yaklaşım: M.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma ve Deney Hayvanı Etik Kurulu Kurs Kitapçığı, 2000.

Kayaalp O. Tıbbi Farmakoloji. 9. Basım: 5-6. Hacettepe Taş, 2000.

Jennings M. Animal Research. The Oxford Companion to The Body. Oxford University Press, New York, 2001; 3-4.