

Laboratuvar Hayvanları Model Seçiminde Soyların Önemi

The Importance of Strains in Choose of Laboratory Animal Models: Review

Buğra GENÇ,^a
Abdurrahman AKSOY^b

^aLaboratuvar Hayvanları AD,
^bFarmakoloji ve Toksikoloji AD,
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Veteriner Fakültesi, Samsun

Geliş Tarihi/Received: 03.02.2016
Kabul Tarihi/Accepted: 23.03.2016

Yazışma Adresi/Correspondence:
Buğra GENÇ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Veteriner Fakültesi,
Laboratuvar Hayvanları AD, Samsun,
TÜRKİYE/TURKEY
bugragenc@gmail.com

Bu çalışma 7. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi (28-30 Mayıs 2015, Samsun)'nde sözlü olarak sunulmuştur.

ÖZET Biyomedikal araştırmalarda istenilen sonuca daha güvenilir bir yoldan ulaşmak için in vivo yöntemlere olan başvuru giderek artış göstermektedir. İn vivo yöntemler içerisinde ise laboratuvar hayvanları modeli özellikle insan hastalıkları modeli oluşturmak için uygun ve güvenilir olan seçeneklerden biridir. Laboratuvar hayvanları kullanılan çalışmalar incelendiğinde, çoğunlukla insan sağlığı üzerine yapılan modellemelere rastlanmaktadır. Ancak, laboratuvar hayvanları kullanımı ne kadar benzer sonuçlar verse de insan-hayvan metabolizma farkları göz ardı edildiğinde önemli bir sorunu da beraberinde getirmektedir. Bunun önüne geçilebilmesi için öncelikle çalışma öncesinde deneme modelinin en doğru biçimde belirlenmesi gerekmektedir. Hayvan türü, soyu, cinsiyeti, araştırmada kullanılacak olan kimyasalların niteliği doğru modeli oluşturmada büyük rol oynamaktadır. Böylelikle doğru sonuçlar alma olasılığı artar iken, 3R kuralına uyum konusunda da dikkat edilmiş olacaktır. Bu çalışmada hayvan modeli oluşturulmasında soyların önemi irdelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hayvanlar, laboratuvar; hastalık modelleri, hayvan

ABSTRACT To achieve the desired results in a more reliable way of research in the health studies, application of in vivo methods has been increasing. Among in vivo methods, use of laboratory animals is one of the appropriate and reliable methods particularly for human disease experiments. Investigating the studies using laboratory animals, most of the experiments seem to be conducted on human health. However, although the results of experiments with laboratory animals are similar to the experiments with humans, differences between human and animal metabolism causes an important issue when ignored. Animal species, strain, sex, nature of the chemicals to be used in research play a great role in creating the right model. Hereby, while the possibility of getting the right result increases compliance with 3R rules would be preserved. In this review, the importance of strains in the creation of animal models were examined.

Key Words: Animals, laboratory; disease models, animal

Türkiye Klinikleri J Lab Anim 2017;1(1):20-7

MODEL HAYVAN

Model hayvan, başka bir tür için kullanılmak üzere gerekli olan bilgilerin, bilimsel hipotez ve etik kurallar doğrultusunda üzerinde deneme yapılarak bulunmaya çalışılan hayvandır. Modern biyomedikal araştırmalar incelendiğinde, hayvan kullanımı ve fonksiyonel inceleme hakkındaki en önemli vurguya 1865 yılında Claude Bernard'ın "Study of Experimental Medicine" adlı kitabının yayımlanmasıyla rastlanmaktadır. Bu tarihten sonra hayvan denemelerine ciddi bir hız verilmiş ve ilk kez diyabet çalışması ile hayvan denemelerinin insan sağlığı için önemli

olabileceği 20. yüzyıldaki çalışmalarla görülmüştür. Mevcut çalışmalar incelendiğinde deney hayvanları modellenerek; etik, fizyoloji, mikrobiyoloji, immüno-oloji, onkoloji, farmakoloji, davranış bilimleri, nöroloji, ve cerrahi bilimleri gibi birçok biyomedikal alanda araştırmalar gerçekleştirilmektedir. Bu çalışmalarda hayvan modellerinin kullanımı ile sonraki aşamada insan modellerine geçilmesi daha güvenilir bir hâle gelmektedir.¹ Bilimsel gelişmelere bağlı olarak kullanımı daha imkânlı hâle gelen simülasyon modelleri, hücre kültürü modeli, matematiksel hesap yöntemleri gibi in vitro yöntemler hayvanların araştırmalarda kullanımına gereksinim olup olmadığını sorgulamada önemli alternatifler olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak hayvan modelleri yerine bu alternatif yöntemlerin hücre, doku, organ ve sistem düzeyinde etkileşimlerinin ortaya konmasında yetersiz olması ve bu modellerin davranış ve psikoloji alanında kullanımının sınırlı olması hayvan modellerine olan gereksinimi beraberinde getirmektedir.² Bu açıklamaların neticesinde, laboratuvar hayvan modellerinin biyolojik ve davranışsal çalışmaların gerçekleştirilebileceği, fizyolojik veya oluşturulmuş patolojik tablonun araştırılabileceği, diğer hayvan ve insan sağlığı alanında kullanılacak en uygun seçenek olduğu ortaya çıkmaktadır.¹ Bilimsel çalışmalar dışında lisans ve yüksek lisans eğitiminde öğrencilerin deney hayvanı kullanma zorunluluğu olan programlarda anatomi, fizyoloji, biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji, biyopsi, biyofizik, farmakoloji, cerrahi, kardiyoloji, nöroloji, kardiyotora-sik cerrahi, laboratuvar tıbbı, nöroşirurji, ortopedi, psikiyatri, oftalmoloji, pediatri, pediatrik cerrahi, endokrinoloji, biyoteknoloji, gastroentoloji, gas-

trointestinal cerrahi derslerinde hayvan kullanımına dair eğitim alınması günümüzde deneysel amaçlı hayvan kullanımının önemini vurgulamaktadır.³ Bu derslerde fare, sıçan, hamster, kobay, gerbil, tavşan gibi laboratuvar hayvanlarının yanında; kurbağa, kedi, köpek, koyun, insan dışı primat ve domuz gibi deney hayvanları da kullanılmaktadır.

MODEL HAYVAN OLARAK KULLANILAN CANLILAR

Günümüzde hayvan modeli kullanılarak yapılan çalışmalarda model olarak fare, sıçan, gerbil, tavşan, kobay ve hamster türlerinin ve bu türlere ait soyların en fazla sayıda yer aldığı görülmektedir (Tablo 1).

Model olarak kullanılacak hayvanların öncelikle sağlıklı ve çalışmada kullanılan parametreleri etkileyecek olan her türlü istenmeyen patolojik bulgudan arınmış olması gerekmektedir. En basit bir parazitolojik enfeksiyonun dahi kan tablosunda yaratacağı değişikliklerle serolojik çalışmalarının etkileneceği bu duruma örnek gösterilebilir. Nitekim, laboratuvar hayvanlarında özellikle sestod ve nematod paraziter enfeksiyonlarına sıklıkla rastlanmaktadır.^{4,6} Enfeksiyon ajanlarının rodentlerde yoğun biçimde varlığı ve bulaşıcı özelliklerinin yüksekliği bilinen bir gerçektir.⁷ Özel olarak üretilmeyen ve doğadan elde edilen hayvanlarla yapılacak olan çalışmaların ne kadar dar bir alana hitap edeceği, sıçanlarla yapılan bir çalışmadan da açıkça görülmektedir. Bu tür soyu ve sağlık durumu net olarak bilinmeyen hayvanlarla ancak doğal ortamlarındaki davranış çalışmaları yapılabilir iken, daha

TABLO 1: Hayvan türleri, tercihen kullanıldıkları alanlar ve avantajları.

Tür	En çok tercih edilen çalışma alanı	Avantaj
Fare	Genetik, soy saflaştırma	Küçük beden yapısı, müdahale kolaylığı, hızlı üreme
Sıçan	Mikro cerrahi, beslenme, biyokimya, endokrinoloji, kanser fizyoloji, nörofizyoloji, farmakoloji, transplantasyon	Adaptasyon kolaylığı, cerrahi müdahale olanağı
Tavşan	Kardiyovasküler hastalıklar, glokoma, patoloji, immünoloji, geriatri, toksikoloji	Cerrahi müdahale olanağı, hızlı üreme
Kobay	Seroloji, metabolizma, enfeksiyon hastalıkları, genetik	
Gerbil	Genetik, parazitoloji, onkoloji, nöroloji, psikoloji.	
Hamster	Uyku, metabolizma, hibernasyon, kardiyak arrest, immünoloji, genetik, parazitoloji	Hibernant hayvan olması

spesifik konuların yapılacağı araştırmalar için tür ve soy bakımından resmi olarak bilinen hayvanların denek olarak kullanılması çalışmanın devamı ve elde edilmek istenen bilgilere daha sağlıklı ulaşım bakımından daha uygun olmaktadır.⁸

Bilimsel çalışmalarda laboratuvar hayvanı kullanımındaki artış ile birlikte bazı sorular gündeme gelmiştir.⁹ Bunlardan en önemlisi ise denemede kullanılacak olan laboratuvar hayvanının en uygun soyunun hangisi olması gerektiğidir.¹⁰ Her soyun kendine ait özellikleri farmakoloji, nöroanatomi, fizyoloji, biyosavunma alanındaki çalışmalarda genetik varyasyon nedenleri ile çalışma sonuçları üzerinde farklılıklara neden olabilmektedir. Bu nedenlerle her çalışma için uygun türün saptanması gerektiği gibi, en uygun olan soyun da belirlenmesinin çalışmanın en doğru şekilde tasarımı, gerçeğe en yakın modelin oluşturulabilmesi ve istenen sonuca en yakın doğrulukta verilerle ulaşılabilmesi açısından önemli olduğu görülmektedir.¹¹⁻¹⁴ Hayvan modelleri oluşturulurken, biyoteknoloji biliminin sunduğu olanaklarla genel anlamda birçok modele uygun hayvan soylarının yanında, çok daha spesifik çalışmalar için genetik yönden tanımlanmış özel soyları üretmek de mümkün olmaktadır.

Özel olarak üretilmiş olan bu soyları kullanarak oluşturulan hastalık modelleri ile viral, bakteriyel, paraziter, fungal hastalıklar, metabolizma, kanser ve immün sistem hastalıkları, merkezi ve periferik sinir sistemi hastalıkları, davranış bozuklukları, cerrahi girişimler, ilaç denemeleri, yan etki çalışmaları, geriyatrik hastalıklar, bağımlılık gibi hastalıklar ve durum bozuklukları içinde çok daha spesifik bir tablo için çalışma yapmak mümkündür.

MODEL HAYVAN NASIL ELDE EDİLİR?

Model hayvan elde etmede transgenik modellerden hastalığa yatkın ya da kendiliğinden hasta olan hayvanlar elde edilebildiği gibi diyetle, ilaçlarla, virüslerle [Ensefalomyokardit (EMC), Coxsackie B, Kilham rat virüsü (KRV), Rubella, cytomegalovirus (CMV)] cerrahi girişimle ya da çeşitli kimyasallarla (streptozosin, alloxan) da hastalık modeli oluşturulabilmektedir.¹⁵

TABLO 2: Genetik yönden tanımlı olmasına göre laboratuvar hayvanları soy sınıflandırması.

Tanımlı Olmayan Soylar	Kısmi tanımlanmış soylar	İzogenik Soylar
Outbred	Outbred mutantları	F1 hibridler
Genetik heteroginöz	Outbred transgenikleri	İnbred
Segregasyon hibrid	Gelişme aşamasındaki inbred	Konjenik-Koizogenik
Outbred seçilmiş		Rekombinant inbred
		Rekombinant konjenik
		Konzomik
		Segregasyon inbred
		Klonlar
		Monozigot ikizler

Transgenik model elde etmede kullanılan yöntemler; Viral Vektörlerle Gen Transferi Tekniği, Embriyonik Kök Hücrelerine Gen Transferi Tekniği, Spermatozootlere Gen Transferi Tekniği, Testislere Gen Transferi Tekniği, Nükleer Transfer Teknolojisi, Pronükleer-DNA Mikroenjeksiyon Tekniği olarak sıralanabilir. Bu tekniklerle 6-7 ay gibi bir sürede istenen özellikte bir model oluşturulabilir iken klasik biyolojik yöntemle model oluşturmak 2 yıl gibi çok uzun bir süreyi almaktadır.¹⁶

Genetik yönden tanımlanmamış olan soylar ve yukarıda adı geçen tekniklerle elde edilmiş olan genetik yönden kısmi tanımlı ve izogenik soylar Tablo 2'de görülmektedir.¹⁷

Genel amaçlı modeller, farklı çalışmaların yapılabileceği tek bir hastalık, bozukluk ya da özelliğe istinaden üretilmemiş olan hastalık modelleridir. Bu modeller üretimlerinin ve yaşam şartlarının kolaylığı ve sağlık alanında geniş bir alanda kullanılabilmesi nedeni ile hayvan modeli ile gerçekleştirilen birçok çalışmada yer bulmaktadır. Çalışılmak istenen konuya bağlı olarak, özel bir amaç için üretilen özelleştirilmiş soyları çalışma alanına göre sıralayacak olursak:

İmmünoloji alanında; T ve B hücreleri gelişimi, eksikliği ve fonksiyonları, hücre ve antijen reseptörleri, monoklonal antikor, immüntolerans, komplement eksikliği, enfeksiyon hastalıklarına direnç, HIV, antraks, tularemi, immün kompleks glomerülonefrit ve nefrit, otoimmünite, lenfoprolif-

TABLO 3: Çalışma alanlarına göre kullanılan laboratuvar hayvanları modelleri (fare).

Çalışma alanı	Model soyları
Genel	B6(Cg)-Tyr ^c -2J/J, CrI:CD1(ICR), CrI:CD1(ICR) Elite, CrI:CF1, CrI:CFW(SW), BALB/cAnNCr, BALB/cAnNCrI BALB/C elite, BALB/cAnNCrI, BALB/cAnNCrI elite, C57BL/6NCrI, C57BL/6NCrI elite, J:NU, NU/J, CrI:CD1(ICR), CrI:CD1(ICR) Elite, FVB;Cg-D11Hipp11tm1(attPx3)Luo, CrI:NIHBL(S) Black Swiss, CrI:CD1(ICR),
İmmünoloji	MRL/MpJ-Fas ^{lpr} /J, BALB/cAnNCr, BALB/cAnNCrI BALB/C elite, BALB/cAnNCrI elite, CB6F1/CrI, CD2F1/CrI, C57BL/6NCrI, C57BL/6NCrI elite, DBA/2NCrI, DBA/2NCrI elite, SJL/JOrlcoCrI, B6.129S7-Rag1tm ^{1Mom} , NOD.CB17-Prkdc ^{scid} /J, CBySmn.CB17-Prkdc ^{scid} /J, A/J, BALB/cByJ, C57BL/10J, DBA/2J, FVB/NJ, NOD/ShiLtJ, CBA/CaHN-Btk ^{cid} /J, B10.RIII-H2 ^r H2-T18 ⁹ /(71NS)SnJ, B6.Cg-Tg(TcraTcrb)425Cbn/J, B6.BKS(D)-Lepr ^{db} /J, CBA/CaHN-Btk ^{cid} /J, AKR/J, C.Cg-Tg(DO11.10)10Dlo/J, B6.Cg-Tg(TcraTcrb)425Cbn/J, 129S1/SvImJ, 129X1/SvJ, A/J, BALB/cJ, C57BL/6J, FVB/NJ, 129X1/SvJ, C57BL/6J, NOD.Cg-Prkdc ^{scid} Il2rgtm ^{1Wj} /SzJ, C3H/HeJ, CBA/J, DBA/1J, MRL/MpJ-Fas ^{lpr} /J, NOD/ShiLtJ, MRL/MpJ-Fas ^{lpr} /J, B10.RIII-H2 ^r H2-T18 ⁹ /(71NS)SnJ, MRL/MpJ-Fas ^{lpr} /J, CBySmn.CB17-Prkdc ^{scid} /J, BALB/cByJ, NOD.Cg-Prkdc ^{scid} Il2rgtm ^{1Wj} /SzJ, CBySmn.CB17-Prkdc ^{scid} /J, B6.SJL-Ptprc ^a Pepc ^b /BoyJ, B6.SJL-Ptprc ^a Pepc ^b /BoyJ, B6.PL-Thy1 ⁹ /CyJ, B6.SJL-Ptprc ^a Pepc ^b /BoyJ, BKS.Cg-Dock7 ^m +/- Lepr ^{db} /J, NZBWF1/J, MRL/MpJ-Fas ^{lpr} /J, B6.Cg-Tg(TcraTcrb)425Cbn/J, C.Cg-Tg(DO11.10)10Dlo/J, B6.PL-Thy1 ⁹ /CyJ, B6.129S7-Rag1tm ^{1Mom} , BALB/cByJ, BALB/cByJ, B6.PL-Thy1 ⁹ /CyJ, C3H/HeJ, CBA/J, MRL/MpJ-Fas ^{lpr} /J, 129S2/SvPasCrI 129-Elite Mice*, B6N-Tyrc/BrdCrCr B6 albino, BALB/cAnNCr, BALB/cAnNCrI BALB/C elite, C3H/HeNCrI, B6N-Tyrc/BrdCrCr B6 albino, BALB/cAnNCrI, BALB/cAnNCrI elite, C3H/HeNCrI, C57BL/6NCrI, C57BL/6NCrI elite, DBA/2NCrI, DBA/2NCrI elite, C.BKa-Ighb/lcrCr, FVB/NCrI
Bağışlılık	C57BL/10J, J:DO, C57BL/6J, DBA/2J
Dermatoloji	129X1/SvJ, A/J, BALB/cByJ, C57BL/6J, DBA/1J, DBA/2J, NOD/ShiLtJ, SJL/J, B6(Cg)-Tyr ^{c-2} /J, NOD.Cg-Prkdc ^{scid} Il2rgtm ^{1Wj} /SzJ, NOD.CB17-Prkdc ^{scid} /J, CBySmn.CB17-Prkdc ^{scid} /J, B6(Cg)-Vps35tm1.2Mjff/J, J:NU, NU/J, C57BL/6J, BTBR T ⁺ Itpr3 ⁹ /J, KK.Cg-A ⁹ /J, B6(Cg)-Tyr ^{c-2} /J, Itpr3 ⁹ /J, C3H/HeJ, CBA/J, B6.129P2-Apoe ^{tm1Unc} /J, CrI:SKH1-H ^{hr}
Nöroloji	BALB/cByJ, C57BL/10J, SJL/J, B10.RIII-H2 ^r H2-T18 ⁹ /(71NS)SnJ, B6.D2-Tg(MAR-ERE-tk-luc-MAR)Top/J, A/J, SJL/J, C57BL/10ScSn-Dmd ^{mdx} /J, DBA/2NCrI, DBA/2NCrI elite, CBA/CaJ, B6CBA-Tg(HDexon1)62Gpb/3J, BALB/cJ, 57BL/10ScSn-Dmd ^{mdx} /J, NZBWF1/J, 129S1/SvImJ, 129X1/SvJ, BTBR T ⁺ Itpr3 ⁹ /J, DBA/1J, DBA/2J, BTBR T ⁺ Itpr3 ⁹ /J, AKR/J, C3H/HeJ, CBA/J, CBA;B10-Tg(H2K ^b -tsA58)6Kio/CrI, C3H/HeNCrI, C3H/HeNCrI, B6SjL-Tg(SOD1*G93A)1Gur/J, B6CBA-Tg(HDexon1)62Gpb/3J, BALB/cJ, C57BL/6J, BTBR T ⁺ Itpr3 ⁹ /J, B6.129P2-Apoe ^{tm1Unc} /J, 129S2/SvPasCrI,
Onkoloji	NOD.Cg-Prkdc ^{scid} Il2rgtm1Wj/SzJ, C57BL/10J, CBA/CaJ, SJL/J, C3H/HeJ, CBA/J, C57BL/6J-Apc Min/J, 129X1/SvJ, A/J, DBA/1J, FVB/NJ, CBySmn.CB17-Prkdc ^{scid} /J, B6.129S7-Rag1tm1Mom, NOD.CB17-Prkdc ^{scid} /J, J:NU, NU/J, BALB/cByJ, BALB/cJ, AKR/J, B6.129S7-Rag1tm1Mom, B6.SJL-Ptprca Pepcb/BoyJ, B6.PL-Thy1a/CyJ, C57BL/6J-Apc Min/J, NOD.Cg-Prkdc ^{scid} Il2rgtm1Wj/SzJ, BALB/cByJ, C3H/HeNCrI, C3H/HeNCrI, CBA;B10-Tg(H2Kb-tsA58)6Kio/CrI, B6.D2-Tg(HS4-Ccnb2-luc-HS4)Top/J
Kardiyoloji	B6.Cg-Lep ^{ob} /J, B6.BKS(D)-Lepr ^{db} /J, BKS.Cg-Dock7 ^m +/- Lepr ^{db} /J, B6.129P2-Apoe ^{tm1Unc} /J, TALLYHO/JngJ, B6.D2-Tg(MAR-PPRE-tk-luc-MAR)Top/
Cerrahi	A/J, BALB/cJ, DBA/1J, SJL/J, NOD/ShiLtJ, B6.Cg-Lep ^{ob} /J, B6.BKS(D)-Lepr ^{db} /J, NOD.CB17-Prkdc ^{scid} /J, B6.BKS(D)-Lepr ^{db} /J, J:NU, NU/J, NOD.Cg-Prkdc ^{scid} Il2rgtm ^{1Wj} /SzJ, B6C3F1/J, B6CBAF1/J, B6D2F1/J, CB6F1/J, NZBWF1/J, NOD.Cg-Prkdc ^{scid} Il2rgtm1Wj/SzJ, B6.D2-Tg(HS4-Ccnb2-luc-HS4)Top/J, CrI:CD1(ICR), CrI:CD1(ICR) Elite, CrI:SKH1-H ^{hr} , B6C3F1/CrI, B6D2F1/CrI, CB6F1/CrI, CD2F1/CrI
Metabolizma	NONcNZO10/LtJ, B6.129S7-Ldlr ^{tm1Her} /J, C57BL/6J, J:NU, NU/J, AKR/J, C57BL/6J, DBA/2J, B6.129P2-Apoe ^{tm1Unc} /J, B6.129S7-Ldlr ^{tm1Her} /J, B6.Cg-Lep ^{ob} /J, B6.129S7-Ldlr ^{tm1Her} /J, AKR/J, B6.BKS(D)-Lepr ^{db} /J, B6.Cg-Lep ^{ob} /J, BKS.Cg-Dock7 ^m +/- Lepr ^{db} /J, B6.D2-Tg(MAR-PPRE-tk-luc-MAR)Top/J, C57BL/6NCrI, C57BL/6NCrI elite, C57BL/6NCrI-Lepr ^{db-ib} /CrI, C57BL/6NCrI-Lepr ^{db-ib} /CrI, C57BL/6NCrI-Lepr ^{db-ib} /CrI, B6.D2-Tg(MAR-PPRE-tk-luc-MAR)Top/J, CrI:CF1-Abcb1a ^{mds} , KK.Cg-A ⁹ /J, B6.BKS(D)-Lepr ^{db} /J, B6.129P2-Apoe ^{tm1Unc} /J, B6.129S7-Ldlr ^{tm1Her} /J, B6.BKS(D)-Lepr ^{db} /J, BKS.Cg-Dock7 ^m +/- Lepr ^{db} /J, B6SjL-Tg(SOD1*G93A)1Gur/J, C57BL/6J, B6.Cg-Lep ^{ob} /J, B6.129S7-Ldlr ^{tm1Her} /J, CBA/CaJ, NONcNZO10/LtJ, TALLYHO/JngJ, KK.Cg-A ⁹ /J, B6.Cg-Lep ^{ob} /J, B6.BKS(D)-Lepr ^{db} /J, BKS.Cg-Dock7 ^m +/- Lepr ^{db} /J, C57BL/6NCrI-Lepr ^{db-ib} /CrI, BALB/cByJ, SJL/J, NOD/ShiLtJ, KK.Cg-Ay/J, BKS.Cg-Dock7 ^m +/- Lepr ^{db} /J, B6CBA-Tg(HDexon1)62Gpb/3J, NONcNZO10/LtJ, TALLYHO/JngJ, B6.Cg-Lep ^{ob} /J, B6.BKS(D)-Lepr ^{db} /J, C57BL/6NCrI-Lepr ^{db-ib} /CrI, C57BL/6J, B6.D2-Tg(MAR-PPRE-tk-luc-MAR)Top/J

Devami →

TABLO 3: Devamı.

Çalışma alanı	Model soyları
Temel bilimler	129X1/SvJ, B6.BKS(D)-Lepr ^{db} /J, NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl/SzJ, FVB/NJ, B6.Cg-Lep ^{ob} /J, BKS.Cg-Dock7 ^m +/- Lepr ^{db} /J
Enfeksiyon hastalıkları	NOD.CB17-Prkdcscid/J, CBySmn.CB17-Prkdcscid/J, B6.129S7-Rag1tm ^{1Mon} , B6C3F1/J, B6D2F1/J, CB6F1/J, J:DO, CBySmn.CB17-Prkdcscid/J, B10.RIII-H2 ^e H2-T18b/(71NS)SnJ, C57BL/10J, CBA/CaHN-Btk ^{vid} /J, MRL/MpJ-Fas ^{pr} /J, CBySmn.CB17-Prkdcscid/J, CrI:CF1, BALB/cAnNCr, BALB/cAnNCrI BALB/C elite, BALB/cAnNCrI, BALB/cAnNCrI elite, B6.SJL-Ptprc ^a Pepc ^b /BoyCr, B6.D2-Tg(MAR-ERE-tk-luc-MAR)Top/J, B6.D2-Tg(MAR-PPRE-tk-luc-MAR)Top/J
Göz hastalıkları	C57BL/6J, B6(Cg)-Tyr ^{c-2} /J, C3H/HeJ, CBA/J, FVB/NJ, SJL/J, B6(Cg)-Tyr ^{c-2} /J, DBA/2J, B6(Cg)-Tyr ^{c-2} /J, C57BL/10ScSn-Dmd ^{mds} /J, C3H/HeNCrI, C3H/HeNCrI, SJL/JOrlcoCrI İç Hastalıkları A/J, BALB/cJ, A/J, CBA/CaHN-Btk ^{vid} /J, C57BL/6J, BALB/cJ, BKS.Cg-Dock7 ^m +/- Lepr ^{db} /J, MRL/MpJ-Fas ^{pr} /J, B10.RIII-H2 ^e H2-T18b/(71NS)SnJ, B6(Cg)-Tyr ^{c-2} /J, CBySmn.CB17-Prkdcscid/J Diş hastalıkları C57BL/6J Doğum ve Infertilite B6SJL-Tg(SOD1*G93A)1Gur/J, B6.Cg-Lep ^{ob} /J, B6.BKS(D)-Lepr ^{db} /J, BKS.Cg-Dock7 ^m +/- Lepr ^{db} /J,
Genetik-soy saflık kontrolü	B6CBA-Tg(HDexon1)62Gpb/3J NOD.CB17-Prkdcscid/J, AKR/J, 129S2/SvPasCrI, C57BL/6NCrI, C57BL/6NCrI elite, FVB/NCrI, SJL/JOrlcoCrI, B6C3F1/CrI, B6D2F1/CrI, J:DO, J:DO, 129S1/SvImJ, B6(Cg)-Tyr ^{c-2} /J, B6.PL-Thy1 ^a /CyJ, B6.SJL-Ptprc ^a Pepc ^b /BoyJ, B6129SF2/J, 129S1/SvImJ, 129X1/SvJ, BALB/cByJ, BALB/cJ, C57BL/6J, C57BL/10J, DBA/1J, DBA/2J, FVB/NJ, NOD/ShiLtJ, SJL/J, C57BL/6NJ, NZBWF1/J, CB6F1/J, B6D2F1/J, B6CBAF1/J, B6C3F1/J, B6129SF2/J, B6129SF2/J, B6C3F1/J, B6CBAF1/J,
Moleküler	B6D2F1/J, CB6F1/J, FVB/NJ, NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm ^{1Wjl} /SzJ, J:DO, B6C3F1/J, B6D2F1/J, CB6F1/J, C.BKa-Igh ^b /IcrCr, B6N-Tyr ^c /BrdCrCr, B6.SJL-Ptprc ^a Pepc ^b /BoyJ, B6.PL-Thy1 ^a /CyJ, B6.D2-Tg(HS4-Ccnb2-luc-HS4)Top/J, BALB/cAnNCr,
Reproduksiyon	BALB/cAnNCrI BALB/C elite, BALB/cAnNCrI, BALB/cAnNCrI elite C.Cg-Tg(DO11.10)10Dlo/J, B6.Cg-Tg(TetraTcrb)425Cbn/J, CrI:CD1(ICR), CrI:CD1(ICR) Elite, CrI:NIHBL(S) Black Swiss,
Davranış	B6.D2-Tg(MAR-ERE-tk-luc-MAR)Top/J, KK.Cg-Ay/J, B6.D2-Tg(MAR-ERE-tk-luc-MAR)Top/J,
Toksikoloji-biyogüvenlik	B6D2F1/CrI, B6C3F1, CrI:NIHBL(S), Black Swiss B6.D2-Tg(HS4-Ccnb2-luc-HS4)Top/J, CrI:CD1(ICR), CrI:CD1(ICR) Elite, CrI:CF1, CrI:CFW(SW), CrI:SKH1-Hr ^{hr} , C3H/HeNCrI, C3H/HeNCrI, C57BL/6NCrI, C57BL/6NCrI elite, DBA/2NCrI, DBA/2NCrI elite, B6C3F1/CrI, B6D2F1/CrI, CD2F1/CrI

feratif, otoimmün lenfoproliferatif sendrom [auto-immune lymphoproliferative syndrome (ALPS)], psöriyazis, inflamatuvar barsak hastalığı [inflammatory bowel disease (IBD)], inflamasyon, deneysel allerjik orşit, rejenerasyon, CD45 antijenleri, Thy1 (CD90) antijenleri, yara iyileşmesi, lupus eritematozus, lenfosit kaynaklı aşı üretimi, Tlr4 eksikliği, Sjögren sendromu, MHC halotip H2b çalışmaları için üretilen soylar,

Bağımlılık alanında; alkol bağımlılığı, ilaca olan direnç, morfine karşın metabolik yanıt ve davranış değişiklikleri,

Dermatoloji alanında, yaşa bağlı olan ve olmayan tüy dökülmesi ve saç kaybı (insana uyarlanan), agresyon, albinizm, allojenik ve ksenojenik greft uygulamaları, dermatit, alopesi hastalık ve tablo çalışmaları için üretilen soylar,

Nöroloji alanında; multipl sklerozis, deneysel otoimmün ensefalomyelit, hormonal nörolojik hastalıklar, musküler distrofi, nöbet, odyojenik

nöbet, ataksi, öğrenilmiş davranışlar, nörodejenerasyon, şizofreni, nörogelişim, epilepsi, kan-beyin bariyeri, amyotrofik lateral skleroz (ALS), Huntington, anksiyete, hidrosefali, otizm, lumbar motor kök aksonlarında demiyelinizasyon hastalıkları, deneysel allerjik ensefalit çalışmaları için üretilen soylar,

Onkoloji alanında; Hodgkin lenfoma, lökemi, hepatoma, meme, akciğer, barsak, böbrek tümör ve kanserleri, skuamöz hücreli karsinom, ksenogreftler, kanser ilaçları, transplantasyon, kök hücre, asites tümörleri, diferansiyasyon, prostatik adenokarsinom, tümör başlatıcı hücreler, proliferasyon çalışmaları için üretilen soylar,

Kardiyoloji alanında; genel kardiyovasküler hastalıklar, kardiyovasküler defekt, vasküler disfonksiyon, diyastolik kalp yetersizliği, felç çalışmaları için üretilen soylar,

Cerrahi alanında; kraniyofasiyal defektler, artirit, kas dejenerasyonu, işlet transplantasyonu, res-

TABLO 4: Çalışma alanlarına göre kullanılan laboratuvar hayvanları modelleri (sıçan).

Çalışma alanı	Model soyları
Genel	Crl:CD(SD), Crl:SD, Crl:WI, Crl:WI(Han), F344/DuCrI, F344/NCrI, Crl:WI(Han), Crl:CD(SD), Crl:SD, Crl:WI, BN/CrI, F344/DuCrI, F344/NCrI
Genetik	PCK/CrljCrI-Pkhd1pck/CrI, SS-Chr 13BN/McwiCrI, Crl:OR(CD), WKY/NCrI, Crl:WI(UL)-Abcg2m1Hubr, SHRSP/A3NCrI, WKY/NCrI, BN/CrI, Crl:WI(UL)-Abcg2m1Hubr, Crl:WI(UL)-Abcg2m1Hubr
Farmakoloji-toksikoloji	Crl:WI(UL)-Abcg2m1Hubr, Crl:WI(UL)-Abcg2m1Hubr, SHR/NCrI, Crl:WI(UL)-Abcg2m1Hubr, Crl:WI(UL)-Abcg2m1Hubr, Crl:WI(UL)-Abcg2m1Hubr, Crl:WI(UL)-Tp53m1Hubr
Davranış	Crl:LE
Metabolizma	Crl:CD(SD), Crl:SD, F344/DuCrI, F344/NCrI, Crl:WI(UL)-Abcg2m1Hubr, Crl:CD(SD), Crl:SD, Crl:LE, GK/TohiCskCrljCrI, Crl:OP(CD), Crl:OR(CD), ZDF-LepfCrI, ZSF1-LepfCrI LepfCrI, SHR/NCrI, Crl:ZUC-LepfCrI, ZDF-LepfCrI, Crl:ZUC-LepfCrI, SS/JrHsdMcwiCrI, SS-Chr 13BN/McwiCrI, SHR/NCrI, SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI, SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI Crl Lean, SHRSP/A3NCrI, ZDF-LepfCrI, ZSF1-LepfCrI LepfCrI, Crl:ZUC-LepfCrI, SS/JrHsdMcwiCrI, SS-Chr 13BN/McwiCrI, GK/TohiCskCrljCrI, Crl:OP(CD), Crl:OR(CD), SHR/NCrI, SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI, SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI Crl Lean, SHRSP/A3NCrI, ZDF-LepfCrI, ZSF1-LepfCrI LepfCrI, Crl:ZUC-LepfCrI, SS/JrHsdMcwiCrI, SS-Chr 13BN/McwiCrI, Crl:OP(CD), Crl:OR(CD), SHR/NCrI, SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI, SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI Crl Lean, SHRSP/A3NCrI, ZSF1-LepfCrI LepfCrI, SS/JrHsdMcwiCrI, SHHF/MccGmiCrI-LepfCrI, SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI, SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI Crl Lean, ZDF-LepfCrI, ZSF1-LepfCrI LepfCrI, SS/JrHsdMcwiCrI, SS-Chr 13BN/McwiCrI, Crl:OP(CD), Crl:OR(CD), SHR/NCrI, SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI, SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI Crl Lean, SHRSP/A3NCrI, ZDF-LepfCrI, ZSF1-LepfCrI LepfCrI, Crl:ZUC-LepfCrI, SS/JrHsdMcwiCrI, SS-Chr 13BN/McwiCrI, GK/TohiCskCrljCrI, Crl:OP(CD), Crl:OR(CD), SHR/NCrI, SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI, SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI Crl Lean, SHRSP/A3NCrI, SF1-LepfCrI LepfCrI, Crl:ZUC-LepfCrI, SHHF/MccGmiCrI-LepfCrI, SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI, ZDF-LepfCrI, ZSF1-LepfCrI LepfCrI, Crl:ZUC-LepfCrI, Crl:OP(CD), SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI, SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI Crl Lean, ZSF1-LepfCrI LepfCrI, Crl:ZUC-LepfCrI, GK/TohiCskCrljCrI, GK/TohiCskCrljCrI, Crl:OP(CD), Crl:OP(CD), SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI, ZDF-LepfCrI, ZSF1-LepfCrI LepfCrI, Crl:ZUC-LepfCrI, SS/JrHsdMcwiCrI, SS-Chr 13BN/McwiCrI, GK/TohiCskCrljCrI, SHROB/KolGmiCrI-LepfCrI, SHRSP/A3NCrI, ZDF-LepfCrI, ZSF1-LepfCrI LepfCrI, Crl:ZUC-LepfCrI, SHHF/MccGmiCrI-LepfCrI, LEW/CrI, SHRSP/A3NCrI, ZDF-LepfCrI, ZSF1-LepfCrI LepfCrI, SHHF/MccGmiCrI-LepfCrI, Crl:WI(UL)-Abcg2m1Hubr
İmmünoloji	BN/CrI
Nöroloji	Crl:WI(UL)-Abcg2m1Hubr, LEW/CrI
Onkoloji	COP/CrCrI, Crl:WI(UL)-Tp53m1Hubr, Crl:WI(UL)-Abcg2m1Hubr, Crl:CD(SD), Crl:SD, Crl:WI(Han), COP/CrCrI, F344/DuCrI, F344/NCrI, BUF/CrCrI, Crl:WI(UL)-Tp53m1Hubr, COP/CrCrI, Crl:WI(UL)-Abcg2m1Hubr, Crl:WI(UL)-Abcg2m1Hubr
Dermatoloji	Crl:CD-Prss8 hr
Kardiyoloji	SS/JrHsdMcwiCrI, SHHF/MccGmiCrI-LepfCrI, SHRSP/A3NCrI
İç hastalıkları	PCK/CrljCrI-Pkhd1pck/CrI
Enfeksiyon hastalıkları	LEW/CrI, Crl:WI, BN/CrI
Cerrahi	F344/DuCrI, F344/NCrI, Crl:CD-Prss8 hr, BN/CrI, LEW/CrI
Biyogüvenlik-Soy saflık kontrolü	Crl:CD(SD), Crl:SD, Crl:CD-Prss8 hr, Crl:WI, Crl:WI(Han), F344/DuCrI, F344/NCrI, SHR/NCrI

piratör sistem defektleri, tümör transplant donörü, hastadan elde edilen ksenogreftler, parental soy için doku transplant donörü, genel transplantasyon, rejenerasyon, genel cerrahi, yara iyileşmesi, maloklüzyon çalışmaları için üretilen soylar,

Metabolizma alanında, beslenme, biyoyararlanım, açlık hiperglisemisi, genetik hipertansiyon,

TABLO 5: İmmün sistem yetersizliği oluşturulmuş fare ve sıçan modelleri.

Fare	Crl:NU(NCr)-Foxn1 ^{nu} , NOD.CB17-Prkdc ^{scid} /NcrCrI, CAnN.Cg-Foxn1 ^{nu} /CrI, Crl:CD1-Foxn1 ^{nu} , CB17/lcr-Prkdc ^{scid} /lcrIcoCrI, CB17.Cg-Prkdc ^{scid} Lystbg-J/CrI, Crl:NIH-Lyst ^{ts9} -J Foxn1 ^{nu} Btk ^{scid} , CB17.Cg-Prkdc ^{scid} Hrhr/lcrCrI, Crl:SHO-Prkdc ^{scid} Hrhr
Sıçan	Crl:NU-Foxn1 ^{nu} , Crl:NIH-Foxn1 ^{nu}

TABLO 6: Dondurulmuş fare embriyoları.

Çalışma alanı	Model soyları
Onkoloji	AKR/NCrI, B6129P2-Pik3ca ^{tm2Bvan} /CrI, B6129P2-Pik3cb ^{tm2Bvan} /CrI, 129S2.129P2-Pik3cb ^{tm2Bvan} /CrI, C.129P2(B6)-Pik3cb ^{tm2Bvan} /CrI, B6129P2-Pik3cb ^{tm1.1Bvan} /CrI, 129S2.129P2(B6)-Pik3cb ^{tm1.1Bvan} /CrI, B6129P2-Pik3cd ^{tm3Bvan} /CrI, B6129P2-Pik3cd ^{tm2Bvan} /CrI, C.129P2(B6)-Pik3cd ^{tm2Bvan} /CrI, B6129P2-Pik3cd ^{tm4Bvan} /CrI
Metabolizma-kardiyovasküler-nefroloji	B6;CBA-Tg(APOA1)427Bres/CrI

TABLO 7: Dondurulmuş fare embriyoları.

Çalışma alanı	Model soyları
Onkoloji	BDIX/CrCrI, NBL/CrCrI, WF/CrCrI
Metabolizma-kardiyovasküler-nefroloji	FHH/EurMcwiCrI

TABLO 8: En çok kullanılan tavşan-hamster-gerbil-kobay modelleri.

Kobay	CrI:HA, CrI:HA-Hrhr
Hamster	CrI:LVG (SYR)
Gerbil	CrI:MON (Tum)
Yeni Zelanda tavşanı	CrI:KBL (NZW)

diyabet [Tip1, Tip 1 (IDDM), Tip 2, Tip 2 (poligenik, transiyent) diyabetik komplikasyonlar, diyetle diyabet oluşturma, ateroskleroz, hiperfaji, hiperkolesterolemi, endokrin defekt (hipotalamus, pitüiter bez ve pankreas), dislipidemi, leptin seviyesi, leptin reseptör defekti, insülin direnci, lipit metabolizma hastalıkları, pregabalin (PGP) eksikliği, endokrin yetersizlik, lipit homeostazis, metabolik defekt, metabolik sendrom, obezite, genetik obezite, glukoz intoleransı, hipertansiyon, hiperlipidemi, hipertrigliseridemi, hipoksi, hiperinsülinemi, organik asidüri, kemik yoğunluğu, arteriyoskleroz, nefropati, streptozosin (STZ) indüksiyonlu diyabet, osteoporoz, protoporfiri çalışmaları için üretilen soylar,

Temel bilimler alanında; hücre biyolojisi, hematopoiezis ve termoregülasyon,

Enfeksiyon hastalıkları alanında; toksikoloji, toksikogenomik görüntüleme, inflamasyon, viroloji, enfeksiyöz hastalıklar, indüklenmiş artrit ve inflamasyon, respiratuvar inflamasyon çalışmaları için üretilen soylar,

Göz hastalıkları alanında; göz anomalileri, göz fizyolojik defektleri, retinal dejenerasyon, glomokom, sensörinöral retinal dejenerasyon (katarakt) çalışmaları için üretilen soylar,

İç hastalıkları alanında; astma, amfizem, kolit, IBD, renal defekt, romatoid artrit, tirozin negatif fenotip, lenfoid doku defekti, polikistik böbrek çalışmaları için üretilen soylar,

Doğum, reproduksiyon ve infertilite alanında; erken ölüm, infertilite, ovalbumin T-hücre reseptörü [T-cell receptor (TCR)] aktarımı, yalancı gebelik, albino hatlar için yalancı gebelik, reproduktif fonksiyon ve disfonksiyon, reproduktif biyoloji, menopoza ve menopoza bağlı hastalıklar için üretilen soylar,

Genetik kontrol alanında, transgenik/knock out model geliştirme, evrim, humanize fare, biyogüvenlik, birçok soy için saflık kontrolü çalışmaları için üretilen soylar,

Genetik araştırma alanında, otozomal resesif karakter, Dahl/SS, OP-CD ve SHR sıçanlar için kontrol, genetik haritalandırma, kök hücre, progenitör hücre çalışmaları için üretilen soylar,

Farmakoloji, toksikoloji ve biyogüvenlik alanında; toksikoloji, güvenlik, yararlanım, etken transportu, hipertansif ilaç geliştirme, farmakokinetik, fototoksisite çalışmaları için üretilen soylar,

Moleküler çalışma alanında, kök hücre, hematopoietik, kanser kök hücre, kimerizm oluşumu, doku ve hücre markerları, hücre proliferasyonu, hibridoma gelişimi çalışmaları için üretilen soylar olarak sınıflandırılabilir. Bu soyların nomenklatürde bildirilen kodları Tablo 3-8'de görülmektedir.

SONUÇ

Günümüzde bilinen ve geliştirilmeye devam edilen laboratuvar hayvanları soyları ile istenilen

alanda daha özelleşmiş çalışmaların yapılması konusunda önemli olanaklar mevcut olmuştur. Araştırma planı oluşturur iken, kullanılacak olan laboratuvar hayvanlarında, sadece kullanılacak olan türün değil, o türe ait en uygun soyun belirlenmesi ile çalışmanın doğruya en yakın verilerle sonlandırılabilmesinin yanında, 3R kuralına uyum konusunda da avantaj sağlanmakta ve araştırma maliyeti düşük tutulabilmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması veya finansal destek bildirmemiştir.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Buğra Genç, Abdurrahman Aksoy; **Tasarım:** Buğra Genç, Abdurrahman Aksoy; **Denetleme/Danışmanlık:** Buğra Genç, Abdurrahman Aksoy; **Analiz ve/veya Yorum:** Buğra Genç, Abdurrahman Aksoy; **Kaynak Taraması:** Buğra Genç; **Makalenin Yazımı:** Buğra Genç, Abdurrahman Aksoy.

KAYNAKLAR

- Salen J. Animal models, principles and problems. In: Svendsen P, Hau J, eds. Handbook of Laboratory Animal Science, Vol. II Animal Models. 1sted. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1994. p.1-6.
- Gnadt BJ. Ethical and legal perspectives. In: Suckow MA, Weisbroth ST, Franklin CL, eds. The Laboratory Rat. 2nded. USA: Elsevier Academic Press; 2006. p.53-70.
- Indian Council 2001. Guidelines for use of Laboratory Animals in Medical Colleges. Indian Council of Medical Research New Delhi; 2001. p.19.
- Gönenç B, Sarimehmetoğlu HO. Continuous feed medication with nitroscanate for the removal of Hymenolepis nana in naturally infected mice and rats. Dtsch Tierarztl Wochenschr 2001;108(10):434-6.
- Baker DG. Flynn's Parasites of Laboratory Animals. 2nded. Iowa: Blackwell Publishing; 2007. p.840.
- Beyhan YE, Gürler AT, Bölükbaş CS, Açıcı M, Umur Ş. [Helminths of some laboratory animals detected by necropsy and fecal examination]. Türkiye Parazit Derg 2010;34(2): 98-101.
- Kalender H. [Isolation of Salmonella spp. from laboratory animals]. J Fac Vet Med Unic Istanbul 2002;28(2):347-51.
- Özen AS, Yılmaz AA. [Nutritional behavior of rattus norvegicus (berkenhout, 1769) at laboratory]. DPÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Derg 2012;(29):7-20.
- Vöikar V, Köks S, Vasar E, Rauvala H. Strain and gender differences in the behavior of mouse lines commonly used in transgenic studies. Physiol Behav 2001;72(1-2):271-81.
- Gerlai R. Gene-targeting studies of mammalian behavior: is it the mutation or the background genotype? Trends Neurosci 1996; 19(5):177-81.
- Nicoletti F, Bruno V, Ngomba RT, Gradini R, Battaglia G. Metabotropic glutamate receptors as drug targets: what's new? Curr Opin Pharmacol 2015;20:89-94.
- Schitine CS, Mello FG, Reis RAM. Neurochemical plasticity of Müller cells after retinal injury: overexpression of GAT-3 may potentiate excitotoxicity. Neural Regen Res 2015;10(9):1376-8.
- Wang D, Yin J, Dong R, Zhao J, Wang Q, Wang N, et al. Inhibition of Janus kinase-2 signalling pathway ameliorates portal hypertensive syndrome in partial portal hypertensive and liver cirrhosis rats. Dig Liver Dis 2015; 47(4):315-23.
- Swearngen JR. Biodifense Research Methodology and Animal Models. 2nded. UK: Taylor & Francis Group; 2006. p.415.
- İrer SV, Gülinnaz A. [Experimental models of diabetes mellitus]. Türk Klinik Biyokimya Derg 2004;2(3):127-36.
- Bağış H. Transgenik rodent üretimi. Yücel O, editör. Küçük Deney Hayvanlarından Rat. 1. Baskı. Ankara: Matris Tanıtım Baskı Hizmetleri; 2012. p.80-5.
- Festing MF. Laboratory animal genetics and genetic quality control. In: Hau J, Hoosier GL, eds. Hand Book of Laboratory Animal Science. Essential Principles and Practices. Vol. I. 2nd ed. USA: CRC Press; 2003. p.184.