

Oftalmolojide Deneysel Hayvan Kullanımı ve Prensipleri

EXPERIMENTAL ANIMAL USAGE AND PRINCIPALS IN THE OPHTHALMOLOGY

Hamdi ER*

Yrd.Doç.Dr.,İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi, Göz Hastalıkları AD, MALATYA

Özet

Deney hayvanlarının bakım ve doğru kullanımı deneysel çalışmanın kendisi kadar önemlidir. Deney hayvanları toksikoloji, beslenme, mikrobiyoloji ve immünoloji, dahili, cerrahi branşlarda ve oftalmolojide uzun süredir kullanılmaktadır. Bu alanlar ile birlikte daha bir çok alanda da hayvanların kullanımı ile ilgili bir çok makale ve kitap yayınlanmıştır. Deneysel tıpta, insandaki bazı fizyolojik araştırmalar için insan modelleri kullanılabilir. Ancak insandaki hastalık hipotezleri ile ilgili olarak direkt insanda deney yapmak mümkün değildir. Bu sebeple, ilaç toksisitelerinin değerlendirilmesi ve patofizyolojik işlemlerde deney hayvanları gereklidir. Bu derlemenin ana amacı, laboratuvar hayvanlarının kullanımı ve bakımı hakkında gerekli bazı ön bilgileri vermektir.

Anahtar Kelimeler: Araştırma, Deney hayvanı, Laboratuvar, Oftalmoloji

T Klin Oftalmoloji 1999, 8:142-146

tkibin yılına yaklaşılın şu günlerde bilim dünyasındaki hızlı teknolojik ve moleküler düzeydeki ilerlemeler oftalmoloji alanına da yansımakta ve paralellik göstermektedir. Bu hızlı ilerlemelere temel oluşturan ilk basamak deneysel çalışmalar olmaktadır. Çünkü bir çok araştırmayı insanda yapmak mümkün değildir. Ayrıca bir çok yeni tekniği de öğrenmek amacı ile ilk olarak insanda tatbik etmek tıbbi etik kurallara uygun değildir. Bu sebeple başta tavşan, rat ve sıçan olmak üzere laboratuvar hayvanları kullanılmaktadır (1-5). Deneysel çalışmada hayvanlar üzerinde çalışma prensiplerinin ve esaslarının bilinmesi, çalışmanın kolaylığı ve güvenilirliği açısından son derece önemlidir.

Geliş Tarihi: 28.05.1998

Yazışma Adresi: Dr.Hamdi ER

Valikonağı Cad. Zafer Mah. 5. Sok
Doğan Ap. No: 13 B/Blok
44020 MALATYA

Summary

The care and management of experiment animals throughout an experiment are as important as the design of the study. Experiment animals have been using for studies in toxicology, nutrition, microbiology and immunology, medicine, surgery and ophthalmology for many years. Numerous articles and books have been published describing the uses of animals in these and other medical fields. In experimental medicine, certain physiological processes in humans can be studied using human model systems. However, hypothesis about disease processes in humans often can not be tested directly. Therefore, various species of animals are required for the studies of pathophysiological processes and the evaluation of drug toxicity. The main objective of this review is to provide some essential information on the care and management of experimental animals for the study of human disease processes.

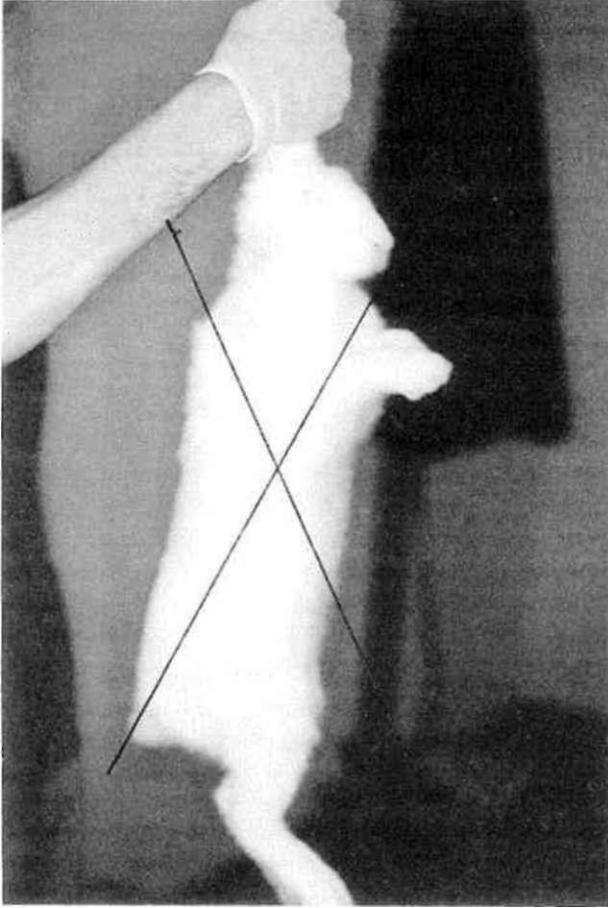
Key Words: Research, Experimental animals, Laboratory, Ophthalmology

T Klin J Ophthalmol 1999, 8:142-146

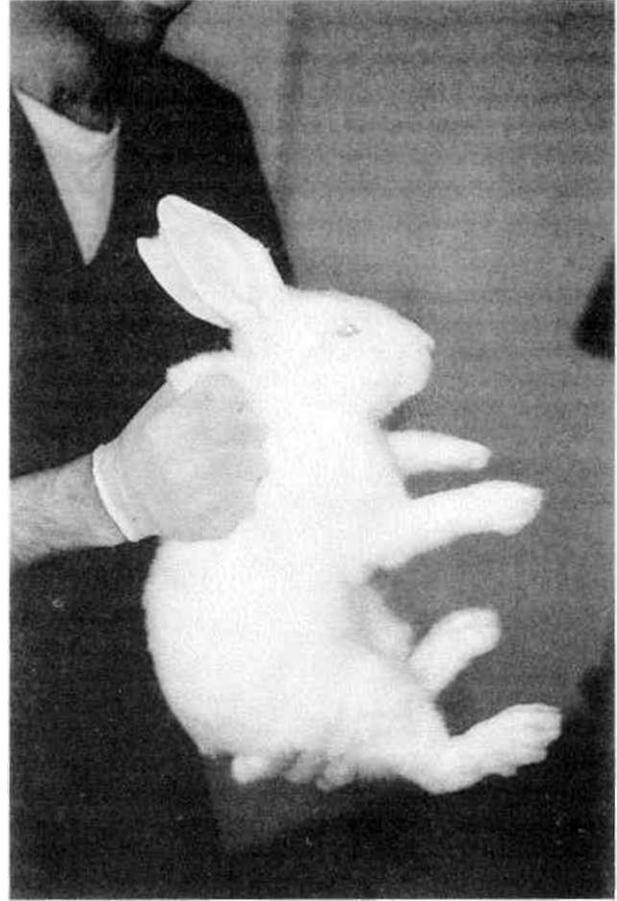
Bu derlemenin amacı bu prensip ve esasların gözden geçirilmesine katkıda bulunmaktır.

Oftalmolojide laboratuvar hayvanı olarak en sık tavşan ile rat, ve daha az oranda da sıçan ile civciv kullanılmaktadır (1-5). Ancak civciv, göz kavitelerinin etrafında kemik kartilaj bulunması sebebiyle deneysel çalışmalar için çok ideal hayvan değildir. Sıçanlar ise bir çok özellikleri bakımından radarla benzerlik gösterdiklerinden, bu anlatımda sadece tavşan ve rat kullanımları üzerinde durulacaktır.

A. Tavşan Kullanımı: Birçok türleri olmasına rağmen günümüzde deneysel çalışmalarda en çok tercih edilenleri Yeni Zelanda beyaz tavşanı, pigmentli tavşanlar ve Dutch-Belted tavşanlarıdır (1,3-5). Tavşanların normalde 15 yıl kadar olan yaşam süreleri, laboratuvar şartlarında 6-7 yıla kadar inmektedir.



Şekil 1. Tavsanın nasıl tutulmaması gerektiğini gösterir resim.



Şekil 2. Tavsanın nasıl tutulması gerektiğini gösterir resim.

Bakım, tespit, kullanım ve beslenmeleri. Hayvanlar klasik olarak günde 12-14 saat ışık alan, 10-18°C ısı ve %50 nem düzeyindeki metal kafeslerde, mümkünse tek olarak tutulmalıdır (1). Hayvanların numaralandırılmasında renkli kalemler kullanılırsa da, bunların etkinliği en fazla 2-3 haftadır. Bu sebeple zaman zaman yenilenmesi, olabilecek karışıklıkları önlemek bakımından önemlidir. Tavşanlar, omurları son derece ince ve travmaya açık hayvanlardır. Bu sebeple hiç bir zaman kullaklarından tutulup sarkıtılmamalıdır (Şekil 1). Taşınması sırasında sırt ve gluteal bölgelerinden kavis verecek şekilde tutulup manipüle edilmelidir (Şekil 2). Hayvanların erkek veya dişi olması özellikle endokrin çalışmalarında önemli olmakla beraber, çalışmanın homojen olması açısından ideali aynı cinsten ve mümkünse aynı soydan olanlardan seçim yapmaktır. Tavşanların ilk 1 kg için kilogram başına 60 kcal, daha sonraki her 0.5 kg için ise 20 kcal günlük besin almaları gereklidir. Tavşanları, ideali yeşil bitkiler ile beslemektir (6).

Anestezi: Günümüzde en çok ketamin ve xylazine genel anestezi tercih edilmektedir (7). Bunların uygu-

lanım türü ve dozları Tablo 1 ve 2'de izlenmektedir (7).

Kan alımları: Normal miktar kan gereksinimleri kulak marjinal veninden rahatlıkla sağlanabilir. Fazla miktar kan örneği gerektiğinde ise kalpten almak gerekir (8).

İlaç Uygulanmaları ve İnjesiyonlar: Tavşanlar ağızdan ilaç kullanımlarını genellikle kabul etmezler. Bu sebeple eğer çalışma bununla ilgili ise mide tüpleri kullanılabilir. Subkutan injesiyonlar için en ideal bölgeler boyun kenarları ve böbrek boşlukları dediğimiz kısımlardır. Kas içi uygulamalarda gluteal bölge seçilmelidir. İntravenöz uygulamalarda ise kulak marjinal veni kullanılır (Şekil 3). Bu tür İnjesiyonlardan evvel bölgesel sıcak kompres ve/veya alkol uygulaması venin daha rahat görünümünü sağlayacaktır. Intraperitoneal uygulamalarda ise hayvan başaşağı sarkıtılır, böylece barsakları yukarı doğru giderek herhangi bir komplikasyon oluşumu önlenmiş olacaktır. Daha sonra mesanenin önünden ve orta hattan injesiyon yapılır. En çok tercih edilen yöntemler intramusküler ve intravenöz olanlarıdır.

Tablo 1. Analjezik ve hipnotik/sedatif ilaçlar ile dozları

Hayvan Türü	Xylazine (Rompun)		Asetilsalisilik Asid (Aspirin)	
	Mg/kg	Uygulanış yolu	Mg/kg	Uygulanış yolu
Tavşan	3-5	İM	500	PO
Rat	10-12	İP	450	PO

Tablo 2. Anestezik ilaçlar ve dozları

Hayvan Türü	Ketamine HCL (Ketalar)		Thiopental Sodium (Pentotal)	
	Mg/kg	Uygulanış yolu	Mg/kg	Uygulanış yolu
Tavşan	20-40	İM	30	İV
Rat	20-40	İM	40	İP
			25	İV
			50	İP

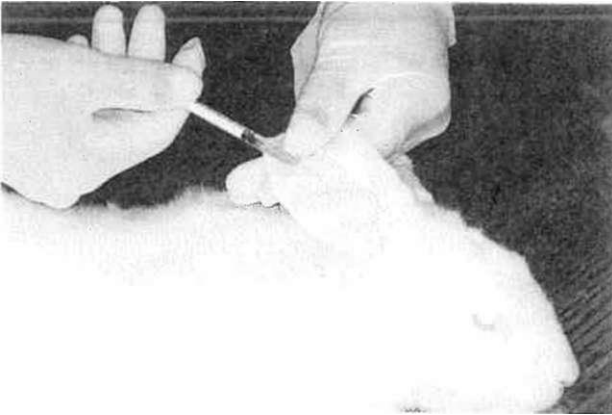
Gerek tavşanda gerekse deney hayvanı olarak kullanılacak diğer tüm hayvanlarda, çalışma sırasında hayvanların sadece tek gözlerinin kullanılması etik açısından çok önemlidir ve bu hususa her zaman dikkat edilmelidir,

B. Rat Kullanımı: Başlıca 3 ana grup rat yaygın olarak deneysel çalışmalarda kullanılmaktadır. Bunlar Wistar tipi albino, Sprague-Dawley tipi albino ve Long-Evans radarıdır (2-5). Ratlar, sıçanlara göre daha az ftoföbik ve daha sakin hayvanlardır. Bu sebeple kullanılışları daha kolaydır. Normal laboratuvar şartlarında en az 3 yıllık yaşam süresine sahiptirler,

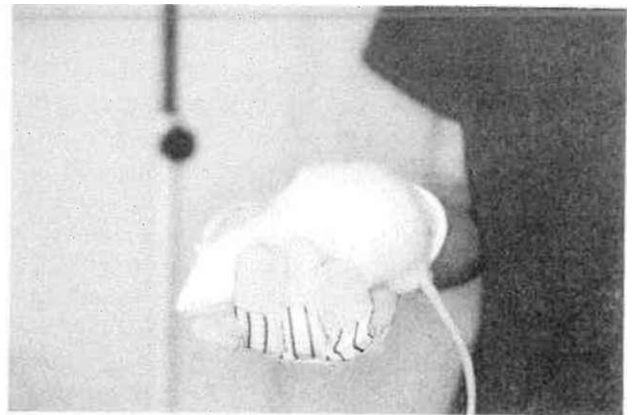
Bakım, tespit, kullanım ve beslenmeleri: Ratlar metal hücrelerde mümkünse tek olarak tutulmalıdırlar. Erkek olanlar aynı hücrede beraber tutulabilirler de, dişi ratlar kendi soyundan olanlar dışındakileri aynı hücrede tolere etmezler. Ratlar için 20-25°C ısı ve %50-65 nem

oranı gereklidir. Ratlarda nem düzeyi tavşanlara göre daha önemlidir. Yine aşırı ısı, soğuğa göre ratlara daha çok zararlıdır. Ayrıca ratlar sıçanlara göre gürültüye daha az hassas olmalarına rağmen, aşırı gürültüde özellikle ana ratlarda sinirsel bozukluk meydana gelebilmekte ve daha sonra bunların genç ve küçük olanlarını öldürmelerine sebep olabilmektedir (2). Bu nedenle laboratuvar şartlarında fazla gürültüden kaçınılmalıdır. Ratların tespitinde tavşanlarda olduğu gibi renkli kalemler kullanılabilir. Ratlar kuyruklarından kolaylıkla yakalanabilir ve daha sonra Şekil 4'de görüldüğü gibi vücudunun altından tutulacak şekilde inanipüle edilirler. Eğer sırtından yakalanıp, tutulmak istenirse ısınabilirler. Bu hayvanların beslenmeleri için var olan özel yemler yeterlidir.

Anestezisi: Ratlarda da en çok ketamin ve xylazine genel anestezisi tercih edilmektedir (7). Bunların uygu-



Şekil 3. Tavşanda kulak veninden yapılan intravenöz uygulama.



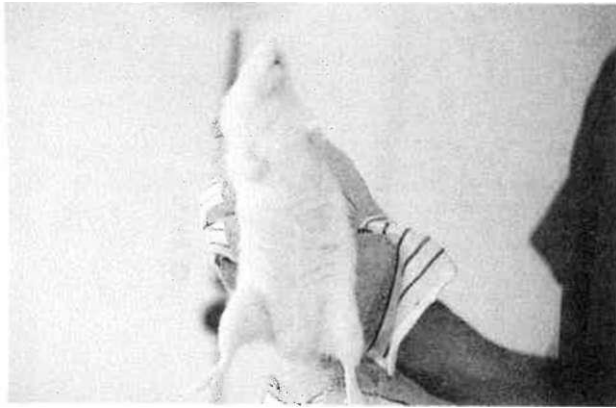
Şekil 4. Rat ve sıçanın normal tutuluş şekli.

Tablo 3. Narkotik analjezik ilaçlar ve dozları

Hayvan Türü	Buprenorphine (Bupronex)		Morphine (Morphine)		Meperidine (Meperidine)	
	Mg/kg	Uygulanış yolu	Mg/kg	Uygulanış yolu	Mg/kg	Uygulanış yolu
Tavşan	0.02-0.05 (8-12 saat etki süresi)	SC,İ	5 (2-3 saat etki süresi)	SC,İM	10 (2 saat etki süresi)	SC,İM
Rat	0.1-0.5 (8-12 saat etki süresi)	SC	10 (2-3 saat etki süresi)	SC	20 (2 saat etki süresi)	SC,İM

Tablo 4. Ötenazi için pentotal dozları

Hayvan Türü	İntravenöz/İntrakardiyak mg/kg	intraperitoneal mg/kg
Tavşan	120	120
Rat	120	120

**Şekil 5.** Rat ve sıçanların intramusküler veya intraperitoneal uygulamalar sırasında tutuluş şekli.

lanım türü ve dozları yine Tablo 1 ve 2'de izlenmektedir. Tüm hayvanlarda cerrahi işlemlerden sonra ağrı hissi olabileceğinden, postoperatif ağrı kesiciler kullanılmalıdır. Bununla ilgili uygulamalar Tablo 3'de görülmektedir.

Kan alımları: Fazla miktar kan örneği için anestezi altında "kardiak puncture" tercih edilebilirken, az miktar (0.2-0.3 ml) örnek için hayvanların kuyrukları tercih edilmelidir. Hayvanın, ısıtıcı lamba ve anestezi altında kuyruklarından küçük parça kesildikten sonra kan örneği tüpe alınır. Örnek alınırken fazla miktar elde edebilmek için hayvanın kuyruğuna masaj yapılması, kanın diğer yumuşak doku sıvı örnekleri ile karışma olasılığı sebebiyle önerilmemektedir (9).

İlaç Uygulamaları ve İnjesiyonlar: Subkutan uygulamalarda derinin gevşek olduğu boyun ve karın

bölgeleri kullanılabilir, intraperitoneal uygulamalarda, hayvanlar boyun ve karın bölgelerinin arkasından Şekil 5'de gösterildiği gibi tutulmalıdır. İğnenin (yaklaşık 26-gauge) ucu 10° sağa veya sola açılı olmalıdır. Böylece mesanenin zedelenmesi önlenmiş olacaktır. Yine karaciğerin zedelenmemesi için injeksiyon noktası çok yukarıdan olmamalıdır. Rat ve sıçanlarda sık tercih edilen diğer bir metod da intramusküler uygulamadır. Bu uygulama hayvanın arka bacak kası içine yapılır. Ancak bu yol ile sadece az miktarda ilaç injeksiyonlan yapmak mümkündür. İntravenöz uygulamalar ise hayvanın vücudu ve kuyrukları ısıtıcı lamba ile iyice ısıtıldıktan sonra, anestezi altında kuyruk venlerinden yapılır.

Ötenazi: Bu işlemlerde amaç deney hayvanının ağrı hissi olmadan ölümünü sağlamaktır. Bunun için günümüzde en çok injeksiyon (Pentotal) ve inhalasyon (CO₂) yöntemleri uygulanmaktadır. Ancak inhalasyon ötenazisi sadece rat ve sıçan gibi küçük hayvanlarda tercih edilebilir. İnjesiyon ötenazisi ise intravenöz, intrakardiyak veya intraperitoneal ilaç verimi ile gerçekleştirilebilir (1,3,7). Bununla ilgili ilaç doz ve uygulamaları Tablo 4'de görülmektedir.

Laboratuar şartlarında deney hayvanlarında bazı hastalıklar gelişebilir. Bunlardan en sık görülenleri tavşanlarda; hemorajik septisemi, oral papillom, koksidiyozis, ratlarda; mikoplazma Enfeksiyonları, pnömoni, paratifo ve karaciğer kistleridir (3).

Günümüzde bir çok ülkede hayvan haklarının korunması ve bunların deneysel araştırmalarda kullanım esaslarını belirleyen çeşitli bağlayıcı kurallar getirilmiştir (10). Bunlar içerisinde en çok referans olarak benimsenen ARVO (The Association for Research in Vision and Ophthalmology) belgesidir (11). Ayrıca Almanya, Kanada, İngiltere, İskandinav ülkeleri olmak üzere bir çok batılı ülke ve hatta bir çok üniversite kendi bünyesinde hayvan kullanımları ile ilgili yasal düzenlemelere sahiptirler. Bizde konunun hassasiyeti ve önemi sebebiyle yakın gelecekte "Türk Oftalmoloji Araştırmalarında Deneysel Hayvan Kullanımı" şartlarını içeren Türk Oftalmoloji Cemiyeti veya benzeri bir kurum ismi altında yasal düzenlemeye kavuşmanın modern anlamda batılı bir ülke olmanın koşulu olduğuna inanmaktayız.

KAYNAKLAR

1. Hume CW. Handbook on the care and management of laboratory animals. In: Adams CE, ed. The rabbit, 4th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1972: 167-87.
2. Hume CW. Handbook on the care and management of laboratory animals. In: Lane-Petter W. The laboratory rat, 4th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1972: 204-12.
3. Mitruka BM, Rawnsley HM, Vadehra DV. Animals for medical research: Models for the study of human disease. 1st ed. Philadelphia: Wiley & Sons, 1976: 23-83.
4. Manning PJ, Ringler DH, Newcomer CE. The biology of the laboratory rabbit. In: Fox RR, ed. Taxonomy and genetics. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1994: 1-19.
5. Rollin BE, Kesel LM. The experimental animal in biomedical research. In: Kesel ML, ed. Rabbits. 1st ed. Boca Raton: CRC, 1995: 351-69.
6. Braunchlich K. Feeding rabbits. La Rocha Basic: Hoffmann 1965: 1-90.
7. Kohn DF, Wixson SK, White WJ, Benson GJ. Anaesthesia and analgesia in laboratory animals. In: Lipman NS, Marini RP, Flecknell PA, eds. Anesthesia and analgesia in rabbits. 1st ed. New York: Academic Press, 1997: 165-233.
8. Cook R, Dorman RG. Anaesthesia of germ-free rabbits and rats with halothane. Lab Anim 1969; 3:101-6.
9. Kraus AL. Research methodology in the laboratory rat, Vol II. In: Baker HJ, Lindsay JR, Weisbroth SH, eds. New York: Academic Press, 1980: 1.
10. Herdman RC. Alternatives to animal use in research, testing, and education. In: Regulation of animal use in selected foreign countries. 1st ed. Washington: US Government Printing Office, 1986; 16: 359-80.
11. Animals in Research Committee. Handbook for the use of animals in biomedical research. Appendix A, 2nd ed. Bethesda, MD: ARVO, 1993: 15-6.