

Farmakoloji ve Toksikoloji Çalışmalarında Rat Modelleri

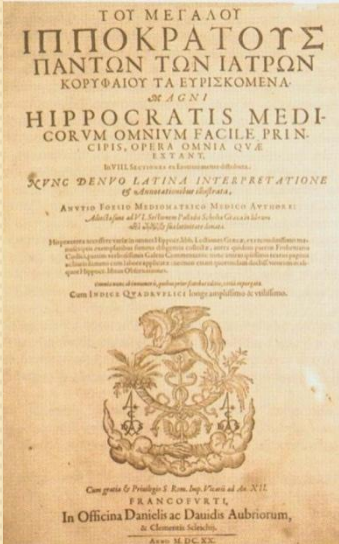
Prof.Dr. Ender YARSAN

*Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı*

*Laboratuvar Hayvanları Bilimi - 3. Ulusal Kongresi
Kayseri - 2013*



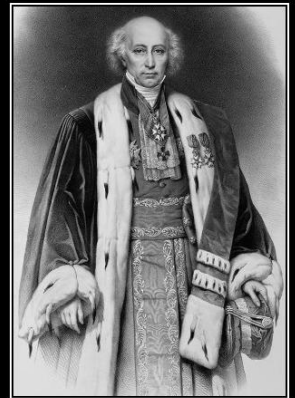
- Modern tıbbın gelişmesinde hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmaların önemli bir yeri olmuştur.



- Bilimsel kayıtlarda ilk deney hayvanı kullanımına M.Ö. 400 yıllarında yazılan **Corpus Hippocraticum** kitabında rastlanmıştır. O dönemde hayvanlar üzerinde yapılan incelemeler sadece **anatomik yapıyı** belirlemeye yönelik olmuştur.

- Deneysel nitelikteki ilk uygulama Galen tarafından yapılmıştır. Bundan sonra birçok araştırmacı çeşitli nedenlerle deney için hayvan kullanmıştır. 19. yüzyılda **Claude Bernard fizyolojik deneyler** için hayvan kullanımının gerektiğini kesin bir dille anlatmıştır.

- Deney hayvanlarının bilimsel çalışmalarda kullanılmasını açıklayan en erken tanımlamalardan birisi de Priestley (1792) adlı araştırmacı tarafından gaz çalışmasındaki kullanımıdır.
- Deney hayvanlarının çeşitli etkenler için **ilk sistematik kullanılması Orfila** (1814) tarafından yayınlanmış; Dubois ve Geiling (1959) adlı araştırmacılar tarafından da tekrarlanmıştır.



MATHIEU JOSEPH BONAVENTURE ORFILA

(1787-1853)

- Daha sonraki dönemlerde deneysel çalışmalar için üretilecek **hayvanların standart koşullarda yetiştirilmesi** yolları aranmıştır.

- Günümüzde basit omurgalı hayvanlardan gelişmiş memeli hayvanlara kadar birçok hayvan türü denek olarak kullanılmaktadır. **En fazla kullanılanlar sıçan, fare, tavşan ve balık, orta düzeyde kullanılanlar ise domuz, kobay, hamster ve maymundur.**

- Deney hayvanları çok çeşitli alanlarda kullanılmakla birlikte en fazla sağlık bilimleri alanındaki çalışmalarda kullanılır. Bu hayvanlar sağlık bilimleri ile ilgili araştırmalarda olduğu gibi aşılar, **ilaçlar, zehirlilik çalışmaları** ve tıbbi malzemelerle ilgili çok sayıda biyolojik testlerde de kullanılır.



Deney Hayvanlarında Çalışma Amaçları

1. İnsan, hayvan ve bitkilerin hastalıklardan korunması ve/veya hastalıkların önlenmesi. İlaçların, maddelerin veya ürünlerin etkinliğinin, emniyetinin, kalitesinin ve yapımının test edilmesi,
2. İnsan, hayvan ve bitkilerdeki hastalıkların tanısı ve tedavisi,
3. İnsan, hayvan ve bitkilerde fizyolojik koşulların tanısı, belirlenmesi, düzenlenmesi ve modifikasyonu,
4. Çevrenin korunması,
5. Eğitim ve araştırma,
6. Adli soruşturma (toksikolojik araştırma)

Mevzuat



- 24 Kasım 1986'da kabul edilen **86/609/EEC sayılı direktif**. Bu direktif 22 Temmuz 2003'te yeniden ele alınarak düzenlenmiş ve 2003/65/EC olarak yayınlanmıştır.
- **1999/575/EC ve 2003/584/EC sayılı komisyon** kararları,
- Uluslararası ölçekte ise bu yöndeki düzenlemelere esas oluşturan 1996 yılında kabul edilen **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals** başlıklı kılavuzdur.

Deney Hayvanı Kullanımı

- Hayvanların deneysel tıpta, farmakolojide, farmasötik gelişmelerde, güvenilirlik denemelerinde ve toksikolojik değerlendirmelerde kullanılmaları kaçınılmaz şekilde devam etmektedir.
- Deney hayvanları ayrıca insanlarda pek çok amaç için kullanılacak ve potansiyel risk teşkil eden ve toksik olan sentetik kimyasalların belirlenmesinde de oldukça başarılı şekilde kullanılır.



Ratların Deneysel Çalışmalarda Kullanılması

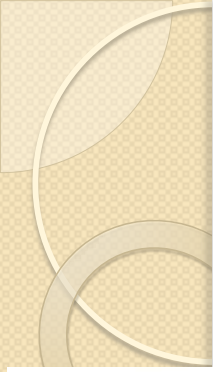
- Norveç ratı (*Rattus Norvegicus*) kökenini Asya'dan aldığı düşünülmektedir ve modern uygarlık süresince ekonomik zarar olarak dünyaya yayılmıştır.
- Ratların, sadece bilimsel amaçlar için evcilleştirilen ilk hayvan olduğu düşünülmektedir; ve adrenal bez fonksiyonu ile ilgili Fransa'da ilk kez deneysel bir çalışmada kullanılmıştır. Ratlarla erken devredeki beslenme, endokrinoloji, fizyoloji ve davranışla ilgili yapılan çalışmalar; memelilerde çeşitli amino asitlerin etkinliği, vitaminlerin değerlendirilmesi, ön hipofiz hormonlarının etkinliği ve sirkadian ritmin varlığı gibi gelişmelere yönelik olmuştur.
- Ratlar biyolojik ve tıbbi araştırmaların hemen her alanında tercih edilen türlerdir.



Ratların Deneyisel Çalışmalarda Kullanılması

- Bugün toksikolojide yaygın olarak kullanılan **Wistar**, Sprague-Dawley, ve Long Evans gibi rat ırklarının çoğu Wistar hattına (Philadelphia, Pennsylvania, ABD)uzanmaktadır.

- Ayrıca **Fischer 344** yaygın olarak kullanılan diğer bir rat ırkı olup New York Columbia Üniversitesi'ndeki Crocker Araştırma Enstitüsü'nde geliştirilmiştir ve kanser araştırmalarında kullanılmaktadır.



Ratların DeneySEL Çalışmalarda Kullanılması

- Ratlar **metaboik benzerlikleri, küçük olması, göreceli olarak uysal olmaları, ömürlerinin kısalığı ve gebelik süresinin kısalığı** nedeniyle tercih edilirler.
- Toksikolojik çalışmalar için uygun türler seçilmeli, farmokokinetik karşılaştırmalar ve farklı laboratuvar türlerinde ve insanlardaki metabolizma farklılıkları esas alınarak değerlendirmeler yapılmalıdır.

Ratların DeneySEL Çalışmalarda Kullanılması

- Ratlar zorunlu olarak **burundan nefes alırlar** ve bunun gibi inhale edilen test materyalleri nazal filtrasyon ve absorpsiyonla karşı karşıya kalırlar.
- Ratlarda **plesanta dikkati çekecek kadar çok gözeneklidir**. Bu farklılık verilen test materyallerinin veya fötüsün karşı karşıya kalmasını daha da arttırır.
- **İntestinal mikrofloranın** tümüyle dağılımı ratlarda farklılık göstermektedir, bu durum ise oral yoldan verilen test materyallerinin metabolizmasında farklılığa yol açar.
- Ratlardaki **bu ve diğer farklılıklar diğer türlerde mevcut olmayacak şekilde test materyallerinin pozitif toksisite bulgularına yol açar**.

Ratların Deneysel Çalışmalarda Kullanılması

- Spesifik karakteristikler için yetiştirilen ratlar ile diğer rat ırkları arasında bazı fizyolojik farklılıklar görülmektedir.
- **Toksik maddelere karşı farklı rat ırklarının farklı cevap vermesi** durumu bazı etkenler için bilinmektedir. Tiyoüre, asetamimofen, 7,12-dimethylbenz(a)anthrasen, trimethyltin, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin için bu türden bir durum söz konusudur.
- Son zamanlarda, araştırma ve yetiştirme programları aynı soydan ve farklı soydan üretilen ratlarda, spesifik hastalık modelleri belirgin kanserojenlerin gelişimine duyarlılık üzerine yoğunlaşmıştır.

Zehirlilik Denemeleri

- Zehirlenme denemelerinin esasını herhangi bir madde ile biyolojik sistemin belirli veya sınırsız bir süre (genellikle ömür boyu) temasa getirilmesi sırasında veya sonucu ortaya çıkacak **görevsel, yapısal, biyokimyasal vb istenmeyen etkilerin nitel ve nicel yönlerden değerlendirilmesi** oluşturur.
- Yani, belli şartlarda tutulan hedef hayvanlarda bir maddenin güvenliğini ve güvenlik genişliğini ortaya koymak, zehirli/zararlı etkilerle birleşen belirtileri tespit etmek ve değerlendirmektir.

Zehirlilik Denemeleri

- Zehirlenmelik denemeleri **deney hayvanlarında** yapılır; çeşitli yollarla vücuda giren ana-madde yanında, vücutta BT'u sonucu oluşan önemli-belirteç metabolitleri de dikkate alınır. Zehirlenme denemeleri **birisi sıçan, diğeri memeli (genellikle köpek) olmak üzere, en az 2 hayvan türünde** yapılır; yapılan incelemenin tipine göre kobay, tavşan, su canlıları gibi hayvanlar da kullanılır. İncelemenin çeşidine göre, deneme grupları, yeteri sayıda yaş ve cinsiyette hayvanları kapsayacak şekilde olmalıdır.
- İnsan ve hayvanlarda herhangi bir maddenin etkilerini değerlendirmek için, **insan ve hayvanlara anatomik ve fizyolojik görev yakınlığı bulunan genellikle sıçan** (kemiricilerin temsilcisi) ve köpek (memelilerin temsilcisi) seçilir. İki türde herhangi bir madde birbirine benzer etki oluşturuyorsa, bu durumun diğer hayvanlar ve insanlarda da görülebileceği kabul edilir.

Zehirlilik Denemeleri

- Bir maddenin zehirliliğinin değerlendirilmesinde esas alınan en önemli kavram **doz-yoğunluk-etki** ilişkisidir; buna göre, ilaçlarda olduğu gibi, zehirli maddelerde de doz, **etkisiz doz, en küçük etki oluşturan doz, belli bir etkiyi oluşturan doz, zehirli doz ve öldürücü doz** diye ayrılabilir.

Zehirlilik Denemeleri

- Toksikolojik denemelerde, incelenen maddenin kullanılma amacı ve süresi son derece önemlidir. Madde kısa süreyle kullanılacaksa (antimikrobiyal maddeler, ağrı kesiciler, ateş düşürücüler gibi) **akut ve subakut**; uzun süre kullanılacaksa (gıda katkı maddeleri, kalp ilaçları, kan basıncını düşüren ilaçlar, bazı sinir sistemi ilaçları gibi), bu denemelerle birlikte, **subkronik ve kronik denemeler** daha fazla önem taşır.
- Gıda katkı maddeleri, gıdalarda kalıntıya yol açabilen ilaçlar, zirai mücadele, halk sağlığı veya çevre sağlığının korunmasında kullanılacak maddeler için, tüm biyolojik sistemler ve etkiler dikkate alınarak, ömür boyu mutajenik ve karsinojenik incelemeler, teratojenik etkili maddeler için de en az **3-nesilde yedirme veya kullanma denemeleri** yapılır.

Zehirlilik Denemeleri

- İlaç, gıda katkı maddesi vb maddelerin geliştirilmesi sırasında hayvanlarda yapılan zehirlenme/zehirlilik denemeleri ve deneme süreleri

Zehirlenme tipi	Deneme, deneme planı ve süresi
Akut	ÖD ₅₀ veya ÖY ₅₀ tayini Yerel veya parenteral uygulamalarla etkilerin incelenmesi
Subakut	Sıçanlarda 3-4 dozda 14-30 gün süreli denemeler Köpeklerde 3-4 dozda 14-30 gün süreli denemeler
Subkronik	Sıçanlarda en az 3 dozda 1.5-3 ay süreli denemeler Köpeklerde en az 3 dozda 1.5-3 ay süreli denemeler
Kronik	Sıçanlarda en az 3 dozda 1-2 yıl süreli (veya ömür boyu) denemeler Köpeklerde en az 3 dozda 6 ay süreli denemeler Üçüncü bir hayvan türünde (fare, kobay, tavşan gibi) 6 ay süreli denemeler
Özel	Karsinojenik etki denemeleri Mutajenik etki denemeleri Teratojenik etki denemeleri Diğer maddelerle etkileşme denemeleri Üreme sistemine etki denemeleri

Zehirlilik Denemeleri

- Zehirlenme denemeleri, incelenen maddeye tek veya tekrarlanarak maruz kalma durumuna göre, **tek doz ve tekrarlanan doz denemeleri** diye genellikle ikiye ayrılırlar.
- Akut zehirlenme denemeleri tek doz; subakut, subkronik ve kronik denemeler ile diğer denemeler tekrarlanan doz denemelerinin örnekleridir.

Zehirlilik Denemeleri

Çalışmanın planlaması

- Çalışmaya başlamadan önce, ana hatları aşağıda verilen bir çalışma planlaması yapılmalıdır.
 - Etik kurul kararı alınır.
 - Deney hayvanlarında 3R kuralı (başka şey kullanma, azaltma, arındırma; sırası ile replacement, reduction, refinement) öngörülür.
 - Çalışmanın amacı, kullanılan maddenin saflığı, etkisi, doz seçimi ve gerekçesi.
 - Hayvanların bakımı (aydınlatma, havalandırma, gürültü, uyum gibi) ve beslemesi (yem, su gibi).
 - İncelenen maddenin hazırlanması ve uygulanması.
 - Muayene (günlük veya belli aralıklarla klinik muayene gibi).
 - Örneklem (kan, idrar, otopsi sonrası doku ve organlar gibi).
 - Analizler (kan, idrar, doku-organ incelemeleri, yem tüketimi gibi).
 - Bulgular (hayvanlara ve örneklerle ilişkin).
 - Sonuçların incelenmesi, değerlendirilmesi, yorumlanması gibi.

Zehirlilik Denemeleri

Tek doz denemeleri (Akut zehirlilik denemeleri)

- Yeni bir madde veya farmasötik ürüne katılan maddeyle ilgili olarak yapılan ilk deneme akut zehirliliğin belirlenmesidir; burada genellikle ağız, deri, solunum ve/veya parenteral yollarla (Dİ, Kİ, DA, Pİ gibi) ÖD_{50} 'nin belirlenmesi, yerel veya parenteral uygulamalar sırasında yerel etkilerin incelenmesi amaçlanır.

Zehirlilik Denemeleri

Tekrarlanan doz denemeleri

- Bu denemelerin amacı hayvanların incelenen maddeye veya madde karışımlarına kısa-orta-uzun süre devamlı maruz bırakılmaları sırasında veya sonunda oluşabilecek fizyolojik, biyokimyasal ve/veya patolojik değişiklikleri nitel ve nicel olarak incelemek, maddenin etkisiz-güvenli miktarını belirlemektir.
- Bu denemelerle herhangi bir maddenin doku ve organlarda ya da sistemlerde üremeye ve gelişmeye yönelik etkileri, mutajenik ve karsinojenik etkileri, sinirlere ve bağışıklık sistemine etkileri incelenir, değerlendirilir ve yorumlanır.

Zehirlilik Denemeleri

Subakut zehirlenme denemeleri

- Bu denemelerin süresi genellikle 2-4 hafta arasında (14-30 gün) değişir. İncelenen madde yeme (bazen suya) 3-4 doz miktarında katılır ve devamlı verilir. Deneme sıçanlarda her dozda ve her cinsiyette 10 hayvanlık, köpeklerde 3-4 hayvanlık gruplarda yapılır. Denemenin sonunda, hayvanlarda, klinik, biyokimyasal (kan ve idrar), histo-patolojik vb incelemeler yapılır.

Subkronik denemeler

- Deney hayvanlarının incelenen maddeye maruziyet süresi genellikle 1-3 ay arasındadır; en çok tercih edilen süre 1.5-3 ay (6-13 hafta)'dır.

Kronik denemeler (Ömür boyu denemeler)

- Kronik veya uzun süreli zehirlilik denemeleri, deneme süresinin uzun olması dışında, subkronik denemelere benzer. Deneme süresi az-çok o maddeye insanların maruz kalma süresine bağlıdır; genellikle de 3 aydan fazla ve 6-24 ay arasındadır.

Ratların Tespit Edilmesi

- Fiziksel hasarın görülmesi ise çiftlik hayvanları, kedi ve köpeklerle göre oldukça azdır.
- Araştırma enstitülerinde yetiştirilen küçük kemiriciler ve tavşanlar oldukça sakin hayvanlardır.
- Uygun tespit teknikleri ve yaklaşımlar uygulandığı zaman çok az sorunla karşılaşılır.

Ratların Tespit Edilmesi

- Kuyruktan yakalayarak tespit etme
- Kavanoz veya tüp tekniği
- İki el tekniği
- Boyun derisinden yakalama tekniği
- Eldiven tekniği



PIXAR ANIMATION STUDIOS

Ratatouille: Personality First Pixar Creative Services
generated from element: final_rat
by: jason@pixar.com 06/06/06 11:02:19 AM 06 : 0502 x 1548

Ratlarda Çalışma Dizaynı

- Toksikolojik çalışmaların dizaynı ve süresi **Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)**, **Uluslararası Harmonizasyon Konsülü (ICH)**, **Çevresel Koruma Ajansı (EPA)** ve benzeri uluslar arası kuruluşlar tarafından hazırlanan yönergeler ile düzenlenmektedir.
- Toksikolojik çalışmalar her biri klinik denemelere dayanan 3 seri çalışmaya ayrılmaktadır.
- Toksikolojik çalışmalarda doz miktarı, planlanan klinik denemenin uzunluğuna bağlıdır.

Ratlarda Çalışma Dizaynı

- 28 gün süreyle kullanılacak olan test bileşikleri başlangıçta iki faz maksimum tolere dozuna ihtiyaç duyar. Başlangıçta tek doz tayin edilir, 5 ve 7 gün süreyle maksimum tolere dozu esas alınarak günlük olarak test bileşiği verilerek ikinci faz takip eder.
- Maksimum tolere dozu çalışmasını tamamlamak için takiben 14 veya 28 gün doz tekrarlanmalıdır. Faz iki klinik denemeyi desteklemek amacıyla, uzun dönem subkronik ve kronik toksisite çalışmaları gerçekleştirilmelidir.
- Tekrarlayıcı toksisite çalışmaları, kullanılması hedeflenen test bileşiklerinin çocuk doğuracak kadınlara verilmesi veya erkek üreme sistemine etkilerinin araştırılmasına gerek vardır. Bu çalışmalar test bileşiklerinin genel fertilite ve reproduktif performansa potansiyel etkilerini değerlendirmeyi, gelişme toksisitesi veya perinatal ve postnatal gelişimi de içermelidir.

İlaçların Uygulama Yolları

- İlaçlar **ağız yolu, damar içi, deri altı, kas içi ve periton içi** yollarla verilebilir. Özel durumlarda rektum içi ve intraserebroventriküler yollar da tercih edilebilir.
- İlacın veriliş yolu verilecek ilaç türü, miktarı ve formu göz önüne alınarak ayarlanmalıdır. Kasların innervasyonunda herhangi bir problem yoksa, ilaçların verilmesinde uygun yol kas içi olarak verilmesidir. Verilecek ilacın pH'sı farklı ve solüsyon irkiltici özellikte ise kas içi yol kullanılmamalıdır.
- Teorik olarak enjekte edilecek solüsyonlar steril olmalıdır. Aksi takdirde enfeksiyon oluşumuna yol açar ve ateş yükselir.
- İnsan ve büyük hayvanlarda enjeksiyon yapılırken kullanılan asepti ve antisepti kurallarına laboratuvar hayvanlarında nadiren başvurulur.

İlaç Uygulama

- Genel olarak tüm enjeksiyonlar özellikle damar içi enjeksiyonlar yavaş yapılmalı ve herhangi bir aşırı duyarlılık reaksiyonuna karşı hasta dikkatli bir şekilde gözlenmelidir.
- Ancak sodyum tiyopental gibi bazı anestezi ilaçları hızlı yapılmalı ve hesaplanan dozun yarısı hemen verilmelidir. Bu ilaçlar yağda iyi çözündüklerinden anestezinin oluşması için etki yerlerine yoğun şekilde ulaştırılmaları gerekir.
- Enjeksiyon yapılacak iğnelerin çapı hayvanın bünyesine, uygulanacak ilacın tabiatına ve yoğunluğuna uygun olmalıdır. İğnenin çapı büyük olursa gerekli doz tam uygulanamaz. Genel olarak akışkanlığı hızlı olan sulu çözeltiler için 25 veya daha küçük numaralı iğneler kullanmak gerekirken, akıcılığı az olan veya yapışkan sıvılar için 21 veya daha büyük numaralı iğnelerin seçilmesi uygundur.

İlaç Uygulama



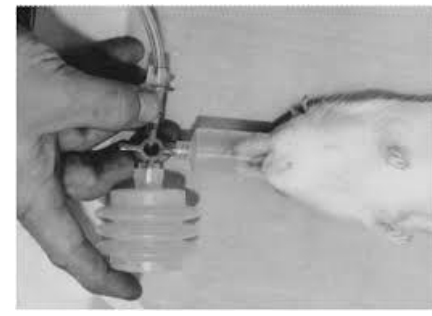
- **Ağız Yolu:** İlaçların solüsyonlar içinde verilebilmesi ve klinik olarak uygun bir yolun olması avantajları arasında sayılır. Özefagusun hasar görebilmesi, yanlış uygulamaya bağlı aspirasyon pnömonisi gibi istenmedik durumlar ve ilaçların mide bağırsak kanalı veya karaciğer tarafından etkisizleştirilmesi ise metodun dezavantajlarıdır.
- Rat ve kobay için 3-4, fare için 2-3 numaralı polietilen kateterler mide sondası olarak kullanılabilir. Plastik sondalar rat, kobay ve tavşanlar için uygunken fareler için uygun değildir.

İlaç Uygulama



- **Damar içi enjeksiyon:** Damar içi enjeksiyonlar genellikle kuyruk venlerinden yapılır. Rat ve farelerde lateral kuyruk veni gençlerde kolayca görülürken, yaşlı hayvanlarda derinin kalınlaşması ile bazen gözden kaçabilir. Laboratuvar hayvanlarında uygulamadan önce kuyruğun ısıtılması venlerin genişlemesini sağlayacağından önerilir. Ratların kuyruklarının 40-45°C'lik suya daldırılması tavsiye edilmektedir.
- Fare ve ratların kuyrukları yeteri derece genişlediğinde uygun tespitin yapılacağı yere taşınır. 25-26 numaralı iğne ve 45 derecelik açı ile venaya girilir. Direncin azalması iğnenin venin içinde olduğunu gösterir.

İlaç Uygulama



- Damar içi ilaç uygulaması, istenilen konsantrasyonda ve hızlı bir şekilde yapılır. Fazla miktarda sıvı bir defada uygulanabilir. Ağrı verici ilaçlar damar içi uygulanabilir.
- Pratik yapmayı gerektirmesi ve araştırmacının laboratuvar hayvanlarına damar içi ilaç uygulayabilecek yetenekte olması bu işlemin dezavantajları olarak kabul edilir.
- Damar içi verilecek ilaç solüsyonu izotonik olmalıdır. Aksi takdirde hemolize yol açar. Süspansiyon tarzındaki ilaçların damar içi yolla verilmesi uygun değildir.

İlaç Uygulama

- **Deri altı yolla ilaç verme:** Kıvrımlı deri kaldırılarak ilaç uygulanır. İğnenin vücut duvarlarına paralel tutulması gerekir. İğne deriyi geçtikten sonra iğnenin büyüklüğü kadar deri altı yolla ilerletilir.
- Deri altı uygulama için çoğu hayvanda boyun derisi tercih edilir.
- Deri altı ilaç kullanmanın en önemli avantajı yavaş yolla emilimin gerçekleşmesidir.

İlaç Uygulama

- **Kas içi enjeksiyon:** Laboratuvar hayvanlarında kas içi enjeksiyonlar quadriceps, biceps femoris ve triceps kaslarına yapılır. Biceps femoris kası laboratuvar hayvanlarında en az rahatsızlığa yol açar. Kasın en şişkin kısmına ilaç uygulanır. Quadriceps kaslarına verilecek ilaçlar hayvanlarda daha fazla ağrıya neden olur.
- Enjeksiyonun yavaş yapılması ve az miktarda sıvı verilmesi ağrıyı azaltılabilir. Bununla birlikte quadriceps kasları kan damarı ve sinirinin olmaması gibi bazı avantajlara da sahiptir.

İlaç Uygulama



- **Periton içi enjeksiyon:** Rat, fare ve kobaylar bir yardımcı tarafından tespit edildikten sonra araştırmacı bir elle bacağı tutar ve diğer elle femura paralel olarak iğneyi karnın geri 1/4'lük kısmından periton boşluğuna uygular.
- Periton içi enjeksiyonun avantajları tekniğin basit ve emilimin de hızlı olmasıdır. Klinik olarak uygun bir yol olmayışı, iritan ajanların verilmesi için kullanışlı olmaması, aseptik teknikler gerektirmesi, uygun yapılmayan enjeksiyonların peritonitis oluşturma riski ve tekrarlayan dozların enfeksiyona yol açabilmesi önemli dezavantajlar olarak sayılır.

İlaç dozları

- İlaçlar tek doz olarak verilebileceği gibi, tekrarlayan uygulamalar şeklinde de verilebilir. İlaç dozu ayarlamadan ve ilaç verilmeden önce şu soruların cevaplandırılması ve değerlendirilmesi gerekir.
- Uygulama ile ne amaçlanmaktadır? İlacın verilmesi ile kısa süreli bir pik devresi mi, yoksa belli bir düzeyde sabit plazma konsantrasyonu mu hedeflenmektedir.
- İlacın dozu ne olmalıdır ve verilecek miktar nedir?
- İlaç hangi formda (solüsyon, emülsiyon, süspansiyon) olmalıdır? Eğer solüsyon şeklinde verilecekse, hangi çözücünde çözdürülmesi daha uygundur? Ayrıca çözücünün pH'sı ne olmalıdır?
- Hangi yolla verilmesi daha uygundur? Genel olarak laboratuvar hayvanlarında düşük dozlarda ilaç uygulanmalıdır. Deri altı ve damar içi yollarla da aynı miktar verilebilir Ancak kas içi yolla az miktarda ilaç uygulanması daha uygundur.

Örnek Alma Teknikleri ve Muayene

Gözlem ve Fiziksel Muayene

- Günlük gözlemler öncelikle sabah daha sonra da öğle vakti hayvanların sağlığını değerlendirmek için yapılmalıdır ve **olası aşırılıklar tanımlanmalıdır**. Bu gözlemlerde; davranış durumu, solunum bulguları ve atılan ürünler not edilmelidir. Bu gözlemleri yaparken hayvanları mümkün mertebe rahatsız etmemeli ve herhangi bir rahatsızlık durumunun strese yol açacağı ve hayvan davranışlarını etkileyeceği unutulmamalıdır.
- Az miktardaki kan antikoagulantlı kapillar tüplere alınabilir. Eğer kan almadan sonra hayvanın yaşaması isteniyorsa dolaşımda bulunan **kan miktarının %10'undan fazla kan alınmaması** gerekir. Pratikte toplam kanın %30-40'ı alınabiliyorsa da bunun ciddi hipovolemi ve kardiyovasküler yetmezliğe yol açacağı da unutulmamalıdır

Örnek Alma Teknikleri ve Muayene

Gözlem ve Fiziksel Muayene

- Kanın %5-10'u alınıyorsa tekrarlayan örneklerin ciddi sorunlara yol açmaması için 2-3 hafta aralıklarla alınması önerilmektedir.
- Stres ve anestezi, hematolojik ve biyokimyasal parametreleri tamamen değiştirebilir. Özellikle hayvanı tespit ederken oluşturulan aşırı stres hematokrit ve akyuvar sayısında artışa neden olur.
- Anestezik ve aneljezikler hematolojik ve biyokimyasal parametreleri değiştirebilmekle birlikte bu durum kontrol ve normal referans değerleri açısından önemli değildir.

Kan alma metotları

Kuyruk veni: Bu metot daha çok rat ve farelerde kullanılır. Hayvanlar anestezi edilir, tespit işlemi uygun bir düzeneğe veya bir yardımcı tarafından gerçekleştirilir. Kuyruk traş edilir ve antiseptikle temizlenir. Hayvanların kuyrukları ısıtılır veya alkol-ksilol karışımı ile friksiyon yapılır.



- Aynı teknik ratlarda da uygulanacağı gibi, 23-25 numaralı iğne ile hassas bir şekilde kan alınır. Örnek aldıktan sonra damar üzerine hafif basınç uygulamak genellikle hemostazis için yeterlidir. Az miktarda kan anestezi edilmiş fare ve rattan kuyruğun kesilmesi ile de alınabilir.

Kan alma metotları

Kalpten kan alma: Bu teknikle fare, rat, kobay ve tavşanlardan kan alınabilir. Hayvanlar anestezi edildikten sonra sırt üstü yatırılır. Sternum palpasyonla belirlenir. Daha sonra bir elin işaret parmağı ile sternum hafif kaldırılır. İğne ile sternumun altından vücut duvarına 25-30° açı yapacak şekilde kalbe girilir. Vücut duvarı delindikten sonra iğne kalbe doğru yönlendirilir ve hafif şekilde piston geri çekilir. Şırınga kanla doluncaya kadar iğne ilerletilir. Bu amaç için 21 veya 23 numaralı iğne tercih edilmelidir.

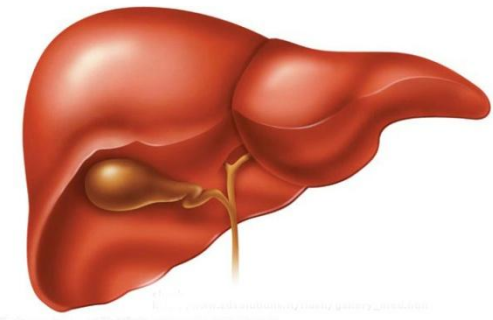
- Miyokardiumun tekrar tekrar delinmesi hemoraji ve ölüme yol açabilir.



İdrar Alma

- Laboratuvar hayvanlarında idrar değişik şekillerde alınır. Bunlardan **ilki normal ürinyasyon sırasında, ikincisi üretranın kateterizasyonu, üçüncüsü idrar kesesinin sistosentezi ve sonuncusu ise metabolik kafeslerin kullanılmasıyla**dır.
- Fare ve ratlar ele alındıkları zaman genellikle idrarlarını yaparlar. Üretranın kateterizasyonu ile idrarın toplanması daha çok tavşanlarda uygundur. Sistosentezde idrar kesesi palpe edildikten sonra iğne ile idrar toplanır. Bu teknik çok iri hayvanlar için pratik değildir. Bu teknik küçük kemiriciler için oldukça pratik kabul edilmekle birlikte dışkı ve diğer materyalle kontaminasyon olabilir.

Metabolizma



- Sitokrom P-450 (CYP450 enzimleri) memelilerde en önemli metabolik enzim sistemini oluşturur ve pek çok familya ve alt tipleri belirlenmiştir. Ratlarda bu enzim grubu ilk olarak izole ve karakterize edilmiştir. Gerçekte ratlarda bilinen en eski sitokrom enzimler **P450d olup insanlardakine benzer olduğu** gösterilmiştir.
- CYP1A2 olarak isimlendirilen enzim aromatik yapılı tercihen aromatik aminler olarak türlerde tipik substratlarla birlikte korunduğu bilinmektedir.
- Ratlarda karaciğer mikrozomal enzim etkinliğinde bu iki CYP formu etkilidir. Bununla birlikte ratlar CYP3A4 olarak bilinen ve insanlar için oldukça önemli CYP için iyi bir metabolik model değildir.

Ötanazi

- Ötanazi işlemi bu konuda eğitim almış kişiler tarafından uygun metotlarla yapılmalı ve bu konuda toplumsal ve etik değerler ile kanuni prosedürde göz önünde bulundurulmalıdır.
- Seçilecek metot hayvanın türü, sayısı ve ölüm sonrası hayvanın kullanılıp kullanılamayacağına göre değişkenlik gösterir.
- Ötanazi amacıyla hayvanlarda farklı yöntemler kullanılır. Bu amaçla, barbitüratlar, kloralhidrat, magnezyum sülfat, uçucu anestezikler, karbondioksit, karbonmonoksit gibi maddeler ile fiziksel metotlar (kafaya darbe, servikal dislokasyon, mermi, giyotin gibi) ötanazi için kullanılan yöntemler olmuştur.



...Teşekkür Ederim...



Prof.Dr. Ender YARSAN



*Laboratuvar Hayvanları Bilimi 3. Ulusal
Kongresi
Kayseri - 2013*