

4R Rule in Laboratory Animal Science

Hakan TÜFEK^{1,2}, Özcan ÖZKAN^{3,*}

¹ Institute of Science, Çankırı Karatekin University, 18100, Çankırı, Turkey

² Experimental Animal Unit, Life Sciences Center, Boğaziçi University İstanbul, Turkey

^{3,*} Department of Biology, Faculty of Science and Arts, Çankırı Karatekin University, 18100, Çankırı, Turkey

Received: 04.02.2018

Accepted: 23.02.2018

Available online: 28.02.2018

Published: 30.06.2018

Abstract: *In vitro* models that can completely mimic the complexity of the human organism are still not available today. For this model, laboratory animals are often used as a living organ complex. Laboratory animals are used in basic medical sciences, to test the safety of medicines and chemicals, and for training purposes. The basic principles considered in laboratory animal science are defined as replacement, reduction, and refinement. Nowadays, "responsibility" is added as the fourth principle. Thus, 4R concept was formed. In this article, it is aimed to give detailed information about these four concepts..

Keywords: Laboratory animal principle, Replacement, Reduction, Refinement, Responsibility.

Laboratuvar Hayvan Biliminde 4R Kuralı

Özet: İnsan organizmasının kompleksliğini tamamen taklit edebilen *in vitro* modeller hala günümüzde mevcut değildir. Bu modelleme için sıklıkla canlı organ kompleksi olarak laboratuvar hayvanları model olarak kullanılmaktadır. Laboratuvar hayvanları, temel tıp bilimlerinde, ilaçların ve kimyasalların güvenilirlik testlerinde ve eğitim amacıyla kullanılmaktadır. Laboratuvar hayvan biliminde göz önüne alınan temel ilkeler, yerine koyma, azaltma ve iyileştirme olarak tanımlanmıştır. Günümüzde bu ilkelere "sorumluluk" da ilave edilmiştir. Böylelikle 4R kavramı oluşmuştur. Bu yazımızda da bu dört kavram hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Laboratuvar hayvanı ilkeleri, yerine koyma, azaltma, iyileştirme, sorumluluk

1. Giriş

Laboratuvar hayvanları, temel biyolojik ve tıbbi araştırmalarda hastalıkların tanı ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde, ilaçların ve kimyasalların güvenilirlik testlerinde, yine biyoloji ve tıp alanında eğitim amacıyla kullanılmaktadır. Bununla birlikte hayvanların rızası olmadan kullanılan bu alanlarda, hayvanlar çoğu kez ağrı, sıkıntı veya kalıcı hasara neden olabilecek girişimlere maruz kalmakta ve bu da ciddi etik sorunlara ve tartışmalara neden olmaktadır. İnsanoğluna göre, uzun vadede insan ve hayvan refahına katkıda bulunabilecek, gerçekleşme olasılığı yüksek olan bilimsel hedeflerin varlığında, alternatif bir yöntemin olmadığı durumlarda hayvanlar üzerinde deneysel çalışmaların yapılabileceği savunulmaktadır (Festing & Altman, 2002; Ergün, 2010).

Araştırma projelerinin başarısındaki en önemli ve kritik bileşenin "deneysel tasarım" olduğu bildirilmiştir. Bu bileşenin tüm yönleriyle ele alınmaması durumlarında araştırmada yanlış sonuçlara, gereksiz zaman ve kaynak harcanmasına neden olabileceği ifade edilmektedir (Johnson & Besselsen, 2002).

Geçerli ve tekrarlanabilir verilerin ortaya konabilmesi için deneyleri yaparken iyi tasarım yapmak ve standart laboratuvar uygulamalarını takip etmek önemlidir (Johnson & Besselsen, 2002). Bu nedenle deneysel çalışma yapacak bir araştırmacı öncelikle yapacağı çalışmanın özgün olup olmadığını, bilime ne ölçüde katkı

sağlayacağını, gerekliliğini ve klinik uygulanabilirliğini sorgulamalıdır (Okur, 2016).

Araştırmacı, deneylerde kullanılan hayvan modellerinin tür, soy ve kaynaklarını seçme nedenini açıkça bildirmelidir. Ayrıca yöntemin her detayı, hayvan sayısı, rasgele seçilme yöntemi, değişkenlerin tipi ve istatistiksel yöntem bilgisi belirtilmelidir (Aguilar-Nascimento, 2005).

Son yıllarda bilim insanlarının etik ilkelere ilgisinin arttığı görülmektedir. Gelişmiş ülkelerde hayvanları koruma yasaları çerçevesinde çıkarılan hayvan deneyleri ile ilgili mevzuat kapsamında, ulusal ve uluslararası bilimsel dergiler, yerel etik kurullar tarafından onaylanmayan çalışmaları yayımlamamaktadırlar (Aguilar-Nascimento, 2005).

Bu kapsamda yazımızın içeriğinde biliminin temelini oluşturan ilkeler içerisinde yer alan yasal sorumluluklar 4R kuralı çerçevesinde değerlendirilecektir.

2. 3R Kuralı

İlk olarak Üniversiteler Hayvan Refahı Federasyonunun (The Universities Federation for Animal Welfare-UFAW) projesinden köken alan ve Russell & Burch tarafından 1959'da "İnsani Deney Tekniğinin İlkeleri" (The Principles of Humane Experimental Technique)'nin yayımlanmasıyla ortaya konan bu ilkeler, Replacement (yerine koyma), Reduction (azaltma), Refinement (iyileştirme) terimlerinin baş harflerinden dolayı kısaca

*Corresponding author: ozcanozkan@karatekin.edu.tr

3R olarak tanımlanmıştır. Tanımlanmış bu temel ilkeler, hayvan deneylerinde araştırmacılara rehber olabilecek nitelikleri açıklamaktadır (Forni, 2007). Russel & Burch, birçok ülkede hayvan refahı için henüz yasal zorunlulukların olmadığı halde hem araştırmacılara, hayvan deneylerinde etik kavramının iyileştirilmesini hem de bilimsel kalitenin artırılması yönünde kendi sorumluluk bilinçleriyle hareket etmeleri çağrısında bulunmuşlardır. Böylelikle bu dönemde yayımladıkları bu eserle hayvan deneyleri alanında çığır açmışlardır. Aynı sorumluluk kavramı günümüzde 4 üncü "R" (Responsibility: Sorumluluk) kuralı olarak kabul görmüştür (Franco & Olsson, 2014).

Diğer taraftan "3R" ilkesi bir bütün olarak düşünülmelidir; bu anlamda R harfini temsil eden her bir kavram eşit derecede önemsenmelidir. Zira canlı hayvan kullanılması gerekmezken canlı hayvan ile yapılan bir deneyde, ne kadar iyi istatistiksel analiz yapıp uygun sayıda hayvan kullanılsa, hayvanlara çok iyi muamele edilirse dahi; 3R ilkesi kapsamında etik kurallar ihlal edilmiş olur (Fenwick et al. 2009).

"3R" ilkesi hem hayvanların kullanılması ve acı çekmesini mümkün olan en az düzeye indirmek hem de kaliteli ve geçerli (uyarlanabilir-translasyonel) bilimin yapılabilmesini desteklemektedir (Graham & Prescott, 2015). Hayvan deneyi yapacak bir araştırmacının öncelikle planlama safhasında 3R ilkesini bilmesi ve yapacağı deneyde bunu uygulaması gerekmektedir. Bu gerekliliğe de uluslararası ve ulusal mevzuatlar çok ciddi vurgu yapmaktadır (Okur, 2016).

Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik'te deney hayvanları ile ilgili yapılacak bütün işlemlerin bir proje kapsamında yapılması, uygun anestezi ve analjezi uygulaması, hayvan etik hakları, deney sürecinde uygulanması gereken etik ilkeler, deneyin sonlandırılmasına ilişkin hususlar, insancıl öldürme yöntemleri, deney sonunda hayvanların akıbeti gibi konulara ayrıntılı olarak yer verilmiştir (Okur, 2016).

Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik (Resmî gazete, 15 Şubat 2014, sayı: 28914) içerisinde 3R ilkesi, "Mümkün olan her durumda, canlı hayvan yerine bilimsel açıdan geçerli başka alternatif bir yöntem ya da deneme stratejisinin uygulaması, proje hedeflerinden ödün vermeden kullanılacak hayvan sayısının olabildiğince azaltılması, hayvanlara acı, eziyet, ıstırap çektirecek ve kalıcı hasar yapacak prosedürlerin iyileştirilerek hayvan refahının artırılmasını ifade eder." olarak tanımlanmıştır. Yine 3R kuralı ile ilgili, aynı yönetmelikte, "Kurum içinde deney hayvanı kullanılması sürecinin 3R ilkesine ve etik kurallara uygun olarak sürdürülmesini denetlemek, bu amaçla gerekli düzenlemeleri yapmak." Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun (HADYEK) görevleri arasında gösterilmiştir. Ayrıca araştırmacıların çalışmalarını yapmadan önce sunduğu projelerin değerlendirilmesinde 3R ilkesine uygunluğun da göz önünde bulundurulması gerektiği yönetmelik maddeleri arasında yer almaktadır.

2.1. Yerine Koyma (Replacement)

Yerine koyma ilkesi; "bilinci yerinde canlı omurgalıların kullanıldığı yöntemlerin yerine geçebilecek hissiz materyallerin kullanılması" şeklinde Russel & Burch (1959) tarafından tanımlanmıştır (Balls, 1994). Bu kavram

bilimsel araştırmalarda eğer mümkünse laboratuvar hayvanı yerine alternatif modellerin kullanılmasını ifade eder. Bunun için öncelikle bilgisayar programlarının araştırılması, bu olası değilse doku kültürü ya da daha düşük yaşam seviyesinde canlıdan başlayıp, en son olarak daha yüksek yaşam düzeyi olan canlıların düşünülmesi gerekmektedir (Okur, 2016). Yeni bilimsel alternatif modellerin geliştirilmesi ve geçerliliği, ahlaki ve yasal açıdan uygunluğun yanında insanlarla daha alakalı mekanik bilgilerin kullanılarak güvenlik değerlendirmesi standartlarının geliştirilmesi için de önem taşır (Barroso et al. 2016).

Bazı kaynaklarda yerine koyma kavramı, tam ve kısmi alternatifler olmak üzere iki alanda değerlendirilir. Tam alternatif kavramı, deneylerde herhangi bir hayvanın kullanılmaması; kısmi alternatif kavramı ise günümüz bilimsel verilerine dayanarak acı çekmeyeceği kabul edilen hayvanların ve etik kurallar dahilinde bu amaç için sakrifiye edilmiş hayvanlardan elde edilen dokuların kullanılmasını ifade eder (The 3Rs, 2018).

Temel bilimsel araştırmalarda alternatif yöntemlerin birçok örneği vardır. Örneğin, toksikolojide alternatif yöntemler için validasyon çalışmaları deneyimlerinden yararlanılarak *in vitro* tekniklerde asgari kalite standartlarını tanımlamayı amaçlayan İyi Hücre Kültürü Uygulamaları (Good Cell Culture Practice-GCCP) kavramı geliştirilmektedir (Gruber & Hartung, 2004). Yine farmakogenetik - biyokimyasal çalışmalarda hayvan kullanımına alternatif olarak *Dictyostelium discoideum* (amoeba)' un araştırma modeli olarak kullanılabilmesi bildirilmektedir (Otto et al. 2016). 3D doku modellerinin hayvan deneylerine karşı, biyolojik dokuyu klasik hücre kültüründen daha iyi taklit eden (*in vivo* tümör mikroçevresine uyum gösteren); doğrudan bir hastada izole edilen hücrelerden oluşturulan doku ile tedavi planlamasını o kişinin biyolojik özelliklerine uyarlama olanağı veren etkin ve etik bir alternatif olabileceği belirtilmiştir (Graham & Prescott, 2015; Gibot, 2017).

Alternatif yöntemlerin uygulanması çoğu durumda, geliştirildikleri laboratuvarlarla sınırlıdır ve teknoloji transferi kaygısı vardır. Bilimsel alanda yayınlanmaları ve ticarileştirmeleri yaygınlaşmalarını sağlasa bile ne yazık ki çok az yöntem standartlaştırılmış ve tekrarlanabilir niteliktedir (Gruber & Hartung, 2004). Diğer taraftan laboratuvar hayvanı yerine kullanılacak yöntemlerden elde edilen veriler *in vivo* çalışmalarda elde edilecek verilerin yerini tutmamaktadır. Bu da insan ve hayvanların çeşitli organ ve sistemlerin etkileşim içerisinde fizyolojik ve patolojik durumlardaki fonksiyonların bir bütünlük halinde işlemlerinden kaynaklanmaktadır. Bunun sonucunda da laboratuvar hayvanı tabanlı deneysel çalışmalar, hala araştırmaların önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Dolayısıyla bu olayların aydınlatılması için çoğunlukla tam organizma üzerinde inceleme yapma zorunluluğu halen sürmektedir (Ergün, 2010). Alternatif yöntemler içerisinde; doku ve organ kültürleri, omurgasız hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalar, omurgalı hayvanların erken gelişim dönemleri (embriyolu yumurta- reproduktif toksisite testleri, serbest beslenebilen amfibi-balık, 3. gestasyon veya inkubasyon döneminden önce sürüngen ve kuşlar, yumurtadan çıktığı döneme kadar kafadan bacaklılar), deney amacıyla kullanılıp sakrifiye edilmiş hayvanlardan elde edilen hücre ve dokuların kullanılması, tek hücrelilerin kullanılması, matematiksel ve bilgisayar

modelleri, gönüllü insan kullanımı ve epidemiyolojik çalışmalar, fiziksel ve kimyasal teknikler ve moleküllerin fiziksel - kimyasal özelliklerine dayalı öngörüler, eğitimde yapay modeller ve filmler yer alır. Bu noktada, eğer yerine koyma olası değilse ve canlı hayvan kullanmak gerekiyorsa ikinci adım azaltma (reduction) konusunun sorgulanmasıdır (Balls, 1994; Altuğ 2009; Graham & Prescott, 2015; Okur, 2016).

2.2. Azaltma (Reduction)

Azaltma, ilkesi, belirli miktar ve kesinlikte bilgi edinmek için kullanılan hayvanların sayısını azaltmaktır. Bu tanım, Russel & Burch tarafından tanımlanmıştır (Ergün, 2010). İstatistik hesabı etkilemeyecek en az sayıda hayvan üzerinde çalışılma ilkesidir (Balkan & Balkan, 2013). Araştırmacıların bu ilkeye sadık kalabilmesi için bazı hususlara dikkat etmeleri gerekir;

a) Yapılmış bir çalışmayı tekrarlamamak, bunun için çok detaylı literatür taraması yapılarak araştırılmak istenen konuda daha önce yayınlanmış makaleleri analiz etmek ve bu kapsamda etik kurul müracaatında sunulacak deneysel çalışmanın makul bir gerekçesini oluşturmak gerekir. Bu sürecin göz ardı edilerek yürütülmesi halinde laboratuvar hayvanlarının mükerrer kullanımına neden olacaktır. Bu noktada araştırmacılar ancak daha önceden yapılmış benzer çalışmaların soruna çözüm üretmediğine kanaat getirmeleri durumunda kendi araştırmalarını başlatabilmelidirler (Ergün, 2010).

b) Pilot çalışma yapmak, yeni prosedür veya bileşik test edilirken çok sayıda hayvan kullanmadan önce ortaya çıkabilecek sorunların belirlenebilmesi için uygulanabilir (Boo & Hendriksen, 2005; Balkan & Balkan, 2013).

c) Planlama aşamasında istatistiksel olarak gruplarda en az hayvan kullanma durumunu belirlemek, yeterli deney tasarım ve istatistik tecrübesi olmayan araştırmacıların istatistik uzmanına anlamlılık için danışması, gereğinden fazla hayvan kullanılmasını önleyebilir (Festing & Altman, 2002; Boo & Hendriksen, 2005; Okur, 2016). Kontrol ve araştırma gruplarına kaçır hayvan düşeceğini iyi hesaplamak gerekir. Çünkü olması gerekenden az hayvan kullanılıp istatistiksel açıdan bir çıkarım yapılamayacak olursa hayvanlar bu durumda da boşa tüketilmiş olur (Ergün, 2010).

d) Kurulan hipotezi en iyi test edecek yöntemin belirlenmesi; araştırmacı, belirli bir yöntem için laboratuvar hayvanı seçerken tür, soy, cins, yaş gibi özelliklere dikkat etmelidir. Deneysel çalışmalarda hayvanların gereksiz yere kullanımına engel olabilmek için bu parametrelerin doğru belirlenmesi gerekmektedir (Ergün, 2010).

e) Verilerin ve kaynakların (doku, ekipman, hayvan), diğer araştırmacı ve kuruluşlarla paylaşılması da hayvan kullanımını azaltmaya katkıda bulunur. Deneyler bitirildikten sonra veriler en kısa sürede bilimsel arenaya sunulmak üzere yayınlanmalıdır. Böylelikle hayvan çalışmalarından üretilen verilerin güncelliğini kaybetmeden yayınlanması da laboratuvar hayvanlarının tekrar kullanımının engellenmesine katkı sağlayacaktır (Ergün, 2010; Graham & Prescott, 2015).

Ayrıca araştırmacıların laboratuvar hayvanları konusunda deneyimli olmaları, laboratuvar hayvanı kullanımı sertifikalarının bulunması, deneyler esnasında

deneyimsiz ellerde oluşabilecek fazladan laboratuvar hayvanı kullanımını azaltacaktır (Ergün, 2010).

2.3. İyileştirme (Refinement)

Üçüncü "R" olarak iyileştirme ilkesi de "*kullanılmak zorunda kalan hayvanlar üzerinde uygulanan insanlık dışı prosedürlerin şiddet insidensini azaltmak*" olarak Russel & Burch'un (1959) eserinde tanımlanmıştır. Özetle burada kastedilen kavram hayvanların refahıdır (Ergün, 2010). Personel iyi eğitilmiş olmalı; hayvanlara etolojik ve fizyolojik ihtiyaçlarını sağlayacak yeterlilikte mümkün olan en az sıkıntıya neden olacak barınma, çevresel zenginleştirme yönünden yüksek standartlar sağlanmalı ve patojenlerden korunmalıdır (Festing & Altman, 2002; Rusche, 2003).

Deneylerde kullanılan hayvanların hissettiği sıkıntı ve ağrıyı önlemek / en aza indirmek, hayvanları kurallara uygun kullanmak araştırmacının öncelikleri arasında olmalıdır. Ayrıca araştırmacı, bilimsel olarak aksi belirtilmediği sürece, insanlarda ağrı ve sıkıntıya neden olan prosedürlerin hayvanlarda da benzer ağrı ve sıkıntıya neden olacağı bilincinde olmalıdır (Pereira & Tettamanti, 2005). Hayvanlarda protokolde belirtilen, öngörülenden daha fazla ağrı, sıkıntı ile karşılaşılması durumunda, durum düzeltilemiyorsa mutlaka veteriner hekime başvurulmalıdır. Unutulmamalıdır ki her hayvanın veteriner hekim tarafından tedavi edilme hakkı vardır.

Kimyasalların ruhsatlandırılmasına yönelik toksikolojik çalışmalarda doz hesaplaması iyi yapılmalıdır; çünkü aşırı doz uygulanması hayvanda ciddi rahatsızlıklara neden olabilmektedir (Stephens et al. 2002).

Yöntemde cerrahi bir işlem varsa insanda geçerli asepsi/antisepsi ve cerrahi kurallar laboratuvar hayvanlarındaki cerrahi uygulamalar için de geçerlidir ve araştırmacı bu hususta gerekli özeni göstermelidir. Hayvanın cerrahi süresince ve sonrasında yaşam fonksiyonları izlenmeli, hipotermi oluşmaması için gerekli önlemler alınmalıdır. Hipovolemi açısından da dikkatli olunmalı ve sıvı-elektrolit dengesinin bozulmaması açısından gerekli önlemler alınmalıdır. Cerrahi prosedürde, dokulara hasar verilmeden tutulması, kanamanın en az olmasına dikkat edilmesi, uygun cerrahi teknik ve materyali kullanılarak inflamasyonun en düşük düzeye indirilmesi sağlanmalıdır. İşlem sonrası bakımın çok iyi koşullarda yapılması ve hayvanların rahat bir uyanma dönemi geçirmeleri sağlanmalıdır (Okur, 2016).

Uygulanacak tüm işlemler boyunca yaşama saygı ilkesiyle hareket edilmelidir. Bir deneyde kullanıldıktan sonra ağrı ve sıkıntı durumu geçmemiş bir hayvanda başka bir işlem uygulanması ve aynı hayvan üzerinde birden fazla acı verici uygulamada bulunması yasaktır. Eğitim amaçlı çalışmalarda ağrılı deneyler yapılmamalıdır (Tan & Çobanoğlu, 2013). Esas olan hayvanların doğal ortamda bulunacakları türlerine özgü şartlara azami uyumun sağlanmasıdır. Cerrahi müdahalelerde analjezi ve anestezi uygulanmalıdır (Aguilar-Nascimento, 2005; Okur, 2016).

Deney sonunda iyileşmesi mümkün olmayan, şiddetli ve sürekli ağrı çeken veya normal yaşamını sürdüremeyecek duruma gelen laboratuvar hayvanları insancıl bir yöntemle öldürülmelidir (Tan & Çobanoğlu,

2013). Yaşamına son verileceği zaman, işlem dikkatle ve hayvana olabilecek en saygılı biçimde davranarak gerçekleştirilmelidir. Seçilen yöntem hayvanda, hızlı bir şekilde bilinç kaybına, ardından solunum ve kalp durmasına ve sonuçta tüm beyin fonksiyonlarının kaybına neden olmalıdır. Ayrıca bu işlem uygulanırken hayvanlar asla tedirgin edilmemelidir (CCAC Guidelines Committee, 2010). Ötenazi kimyasal veya fiziksel olmak üzere iki yolla yapılabilir. Kimyasal ötenazide işlem yüksek doz anestetik madde uygulanarak gerçekleştirilebilir. Bu yöntemde enjektabl veya solunum yolları anestetikleri kullanılabilir gibi, CO veya CO₂ gazları solutturma yöntemi de kullanılabilir. Bu gazlar, kokusuz ve ucuz olduğundan tercih edilseler bile özellikle CO gazını kullanımında sızıntının olmamasına dikkat edilmesi gerekir. Eğer kimyasal maddelerin deney sonuçlarının üzerinde olumsuz etkileri olduğu anlaşılır ise fiziksel yöntemlere başvurulur. Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar için Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmeliğin (Resmi gazete, 13 Aralık 2011, sayı: 28141) ekinde hayvan için uygun öldürme yöntemleri tanımlanmıştır (Tablo 1). Sözü geçen yönetmelik ekinde de "Hayvanların öldürülmesinde dolaşımın daimi olarak durduğunun teyidi, beyin ölümü, boyun dislokasyonu; kan kaybı ya da exsanguination ve rigor mortis başlandığının teyidi" gibi yöntemlerden biriyle hayvanın öldüğü kesinleştirilmelidir.

Sonuç olarak; 'Refinement' ilkesinin uygulanmasındaki temel amaç her ne kadar hayvanların eziyet görmesini engellemek olsa da bilimin kalitesinin artmasında ve hayvan araştırmalarının maliyetinin düşmesinde etkili rolü vardır (Smaje et al. 1998; Fenwick et al. 2009). Zira bilimsel bulgular, acı çekme ve stres altında olmanın hayvan davranışlarını, fizyolojik ve immünolojik durumunu değiştirdiğini göstermektedir. Bu değişiklikler deney sonuçlarında tutarsızlığa, standardizasyonun bozulmasına ve tekrarlanabilirliğinin olmamasına sebep olur (The 3Rs, 2018).

3. Dördüncü R: Sorumluluk (Responsibility)

Dördüncü "R", ilk olarak Banks tarafından *Responsibility* olarak tanımlanmıştır (Franco & Olsson, 2014). Bu ilke temelde laboratuvar hayvanını bir değer olarak görüp bunlara karşı sorumluluklarını bilmesini ve ona göre davranmasını, yeni yöntemlerin ve teknolojilerin geliştirilmesi ile kişisel sorumluluğunun artırılmasını öngörmektedir. Laboratuvar hayvanı kullanan her bir araştırmacının yürüttüğü çalışmaya uygun olarak kullandığı hayvana, bilim disiplinine, destekleyicisine ve kamuoyuna karşı sorumluluğu vardır. Dolayısıyla bu sorumlulukta özellikle toplumun bilimsel araştırmalarda, ürünlerin test edilmesinde, eğitimde hayvan modellerinden faydalanılması konusundaki kamuoyunda bilinçlilik ve farkındalık seviyesinin artırılmasını temel almaktadır. (Altuğ, 2009; Özkul, 2012). Bu nedenle laboratuvar hayvanı kullanılarak yürütülecek çalışmalarda, araştırmacıların birtakım kurallara uyması gerekmektedir. Bu kuralların temel amacı laboratuvar hayvanlarının haklarını korumak, araştırmacının deneylerini ve bunlardan elde edeceği verilerin güvenilirliğini mevcut yasalar, yönetmelikler, yönergeler ve kılavuzlar doğrultusunda sağlamaktır. Bu kurallarla yapılan yüksek standartlı çalışmalar bilime özgün bilgilerin üretilmesine imkân sağlanacaktır. Bu anlamda da laboratuvar hayvanı kullanıcılarının mevcut

mevzuat hakkında bilgi sahibi olması gerekmektedir (Altuğ, 2009).

Diğer yandan ilaç ve kimyasal maddelerin ruhsatlandırılabilmesi için asgari güvenlik standartlarının belirlenmesinde hayvan deneylerine ihtiyaç duyulurken, temel araştırmalarda bilim insanlarını hayvan deneyleri yapmaya zorlayan herhangi bir düzenleme bulunmamaktadır. Bu alanda çalışma yapmak isteyen bilim insanları çoğu zaman özgür seçimle bir soru ortaya atıp devamında yalnızca hayvan deneyleri ile yanıtlanabilecek bir hipotez kurarlar. Bir hipotezin araştırmaya değer olması, dahası araştırmak amacıyla hayvan kullanımına ihtiyaç olup olmadığı, alternatif yönetime yönelimin mümkün olup olmadığı, öncelikle araştırmacının bireysel sorumluluğundadır. Bu konuda eğitilmiş bir zihin karar aşamasında etik kavramını da hesaba katacaktır. Ancak etik ilkeler, bilimsel araştırmalarda alternatif yöntemlere yönelim için tek başına yeterli değildir. Alternatif yöntemlerin geliştirilmesini desteklemek adına kamu fonları artırılmalıdır. Ayrıca bilimsel sonuçların yayınlanmasında görev alan dergilerin, ortak bir dille yazılması, makalenin kabulü için yazarlardan belirli standartlar talep edecek talimatlar belirlemesi (kalite 'GCCP', hayvan deneyine alternatif herhangi bir yöntem olmadığına dair kanıt, vb.) de alternatif yöntemlere yönelimde yarar sağlayabilir (Gruber & Hartung, 2004). Bilimsel kalite ve hayvan deneylerinde etik kavramının iyileşmesi konusunda araştırmacılar ile birlikte veteriner hekimlerin, hayvan bakıcılarının, etik kurulların, denetçilerin, finansörlerin, bilimsel dergi editörlerinin, kamu kurumlarının da sorumlulukları vardır (Franco & Olsson, 2014).

Örneğin; Hindistan'da hükümet tarafından yetkilendirilmiş Hayvan Deneyleri Yönetim ve Denetim Kurulu (The Committee for the Purpose of Control and Supervision of Experiments on Animals - CPCSEA), temelde deneylerde kullanılacak hayvanların prosedür öncesi, sırası, sonrasında gereksiz acı-eziyet çekmesini önlemek amacıyla faaliyet göstermektedir. Bu kuruluş, ulusal düzeyde hayvan deneylerinde iyi laboratuvar uygulamaları ilkelerinin uygulanmasını zorunlu kılmış, 3R ilkeleri için kılavuzlar tasarlamıştır. Dördüncü R ilkesi için 'rehabilitasyon' kavramını öne sürmüş ve yasalar ile standartlaştırmıştır. Mevzuattaki rehabilitasyon kavramı, araştırmacının laboratuvar hayvanını kullandıktan sonra ona karşı ahlaki bir sorumluluğa sahip olması, deney sonrası hayvanların rehabilitasyon maliyetinin araştırma maliyetine dahil edilmesini kapsamaktadır (Mandal & Parija, 2013).

4. Sonuç

İnsan organizmasının kompleksliğini tamamen taklit edebilen *in vitro* modeller günümüze kadar henüz geliştirilememiştir. Bu modelleme için sıklıkla canlı organ kompleksi olarak laboratuvar hayvanları model olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle kullanılacak laboratuvar hayvanlarının sahip oldukları değer çerçevesinde çalışmalar planlanmalıdır. Bu planlama içerisinde hayvan kullanımının etik değerler kapsamında temel üç ilkesine uygun davranmak ve deneyi planlamak, tamamen araştırmacının sorumluluğundadır. Bu sorumluluk kavramı günümüzde dördüncü "R" olarak ilave edilmiştir. Bu sorumluluk hem vicdani hem de kamu vicdanına uygun olarak çalışmanın gerekliliği ve sonuç kısmına kadarki

sürecin bir farkındalık içerisinde yürütülmesidir. Bu bağlamda da bu ilkeler ışığında, canlı organ kompleksi olan laboratuvar hayvanları çalışmalarda alternatif

yöntemler yanında model olarak kullanılmaya devam edecektir.

Tablo 1: Hayvanlarda kullanılan uygun öldürme yöntemleri

Hayvanlar Yöntemler/açıklamalar	Balık	Amfibi	Sürüngen	Kanatlılar	Kemirgen	Tavşanlar	Kedi, köpek, dağ gelinciği ve tilkiler	Büyük memeliler
	Anestezi doz aşımı	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
Şok tabancası	-	-	(2)	-	-	-	-	-
Karbon dioksit	-	-	-	-	(3)	-	-	-
Boyun dislokasyonu	-	-	-	(4)	(5)	(6)	-	-
Beyin sarsıntısı/baş darbe	-	-	-	(7)	(8)	(9)	(10)	-
Başın kesilmesi	-	-	-	(11)	(12)	-	-	-
Elektroşok	(13)	(13)	-	(13)	-	(13)	(13)	(13)
İnert gazlar (Ar, N2)	-	-	-	-	-	-	-	(14)
Uygun tüfek, tabanca ve mühimmatla vurmak	-	-	(15)	-	-	-	(16)	(15)

Uygulama şartları

1. Gerekli durumda, önceden sakinleştirici vererek kullanılır.
2. Yalnızca büyük sürüngenlerde kullanılır.
3. Yalnızca yeni doğan evresinden sonraki gradual-fill' evresindeki kemirgenlerde kullanılacak olup fetüs ve yeni doğanlarda kullanılmaz
4. Yalnızca 1 kg'ın altındaki kanatlılarda kullanılır. 250 gr'ın üstündeki kanatlılara sakinleştirici verilir.
5. Yalnızca 1 kg'ın altındaki kemirgenlerde kullanılır. 150 gr'ın üstündeki kemirgenlere sakinleştirici verilir.
6. Yalnızca 1 kg'ın altındaki tavşanlarda kullanılır. 150 gr'ın üstündeki tavşanlara sakinleştirici verilir.
7. Yalnızca 5 kg'ın altındaki kanatlılarda kullanılır.
8. Yalnızca 1 kg'ın altındaki kemirgenlerde kullanılır.
9. Yalnızca 1 kg'ın altındaki tavşanlarda kullanılır.
10. Yalnızca yeni doğanlarda kullanılır.
11. Yalnızca 250 gr'ın altındaki kanatlılarda kullanılır.
12. Yalnızca diğer yöntemler mümkün olmadığında kullanılır.
13. Özel ekipmanıyla uygulanır.
14. Yalnızca domuzlarda kullanılır.
15. Yalnızca deneyimli keskin nişancılar tarafından saha şartlarında kullanılır.
16. Yalnızca deneyimli keskin nişancılar tarafından saha şartlarında, başka yöntemler mümkün olmadığında, kullanılır.

Kaynaklar

Aguilar-Nascimento, J.E. (2005). Fundamental Steps in Experimental Design for Animal Studies. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 20(1), 2-8.

Altuğ, T. (2009). Hayvan deneyleri etiği. *Sağlık Bilimlerinde Süreli Yayıncılık*. 53-68.

- Balkan, A., & Balkan, M. (2013). Hayvan Çalışmalarında Etik, Laboratuvar Standardizasyonu ve Hayvan Bakımı ile İlgili Yasal Zorunluluklar. *Türk Toraks Dergisi*, 14(suplment 2), 6-9.
- Balls, M. (1994). Replacement of Animal Procedures: Alternatives in Research, Education and Testing. *Laboratory Animals*, 28, 193-211.
- Barroso, J., Ahn, I.Y., Caldeira, C., Carmichael, P.L., Casey, W., Coecke, S., Curren, R., Desprez, B., Eskes, C., Griesinger, C., Guo, J., Hill, E., Roi, A.J., Kojima, H., Li, J., et al., (2016). International Harmonization and Cooperation in the Validation of Alternative Methods. In: Eskes C., Whelan M. (Eds) *Validation of Alternative Methods for Toxicity Testing*. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 856. Springer, Cham, 343-386. 856 pp.
- Boo, de J., & Hendriksen, C. (2005). Reduction Strategies in Animal Research: A Review of Scientific Approaches at the Intra-Experimental, Supra-Experimental and Extra-Experimental Levels. *Atla*, 33, 369-377.
- Ergün, Y. (2010). Hayvan deneylerinde etik. *Arşiv*. 19: 220-235.
- Fenwick, N., Griffin, G., & Gauthier, C. (2009). The Welfare of Animals Used in Science: How the "Three Rs" Ethic Guides Improvements. 50, 523-530.
- Festing, M.F.W., & Altman, D.G. (2002). Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. *ILAR Journal*, 43(4), 244-258.
- Forni, M. (2007). Laboratory Animal Science: A Resource to Improve the Quality of Science. *Veterinary Research. Communications*, 31(Suppl 1), 43-47.
- Franco, N.H., & Olsson, I.A.S. (2014). Scientists and the 3Rs: Attitudes to Animal Use in Biomedical Research and the Effect of Mandatory Training in Laboratory Animal Science. *Laboratory Animals*, 48(1), 50-60.
- Gibot, L. (2017). 3D Tissue models to bridge the gap between cell culture and tissue in assessing electroporation. In: D. Miklavčič (Eds.) *Handbook of Electroporation*. (pp. 255-269.) Springer, Cham. 2998 pp.
- Graham, M.L., & Prescott, M.J. (2015). The multifactorial role of the 3Rs in shifting the harm-benefit analysis in animal models of disease. *European Journal of Pharmacology*, 759, 19-29.
- Gruber, F.P., & Hartung, T. (2004). Alternatives to animal experimentation in basic research. *Altex*, 21(Suppl 1), 3-31.
- Johnson, P.D., & Besselsen, D.G. (2002). Practical aspects of experimental design in animal research. *ILAR Journal*, 43(4), 202-206.
- Mandal, J., & Parija, S.C. (2013). Ethics of involving animals in research. *Tropical Parasitology*, 3(1), 4-6.
- Okur, H. (2016). Deneysel Araştırma Yöntemleri. *Çocuk Cerrahisi Dergisi*, 30(Ek sayı 1), 7-11.
- Otto, G.P., Cocorocchio, M., Munoz, L., Tyson, R.A., Bretschneider, T., & Williams, R.S.B. (2016). Employing *Dictyostelium* as an Advantageous 3Rs Model for Pharmacogenetic Research. In: Jin T., & Hereld D. (Eds) *Chemotaxis. Methods in Molecular Biology*, vol 1407. (pp. 123-130) Humana Press, New York, USA, 425 pp.
- Özkul, T. (2012). Deney Hayvanlarının Kullanımında Genel Mevzuat, Düzenleme ve Kurallar. Küçük Deney Hayvanlarından Rat (Ed. Orhan Yücel) *Journal of Clinical and Analytical Medicine Kitap Serisi*. Ankara. Türkiye.
- Pereira, S., & Tettamanti, M. (2005). Ahimsa And Alternatives - The Concept Of The 4th R. The *CPCSEA in India*. *Altex*, 22(1), 3-6.
- Rusche, B. (2003). The 3Rs and Animal Welfare Conflict Or The Way Forward? *Altex*, 20(Suppl 1), 63-76.
- Smaje, L.H., Smith, J.A., Combes, R.D., Ewbank, R., Gregory, J.A., Jennings, M., Moore, G.J., Morton, D.B. (1998). Working Group Report: Advancing Refinement of Laboratory Animal Use. *Laboratory Animals Ltd.*, 32, 137-142.
- Stephens, M.L., Conlee, K., Alvino, G., & Rowan, A.N. (2002). Possibilities for Refinement and Reduction: Future Improvements within Regulatory Testing. *ILAR Journal*, 43, 74-79.
- Tan, D., & Çobanoğlu, N. (2013). Hukuki ve Etik Boyutuyla Türkiye'de Hayvan Deneyleri. *Türkiye Klinikleri Tıp Etiği Dergisi*, 21(1), 24-37.
- The 3Rs. (2018). National Centre for the Replacement Refinement & Reduction of Animals in Research. Retrieved from <https://www.nc3rs.org.uk/the-3rs>
- CCAC Guidelines Committee, (2010). The Canadian Council on Animal Care (CCAC) guidelines on: euthanasia of animals used in science. Retrieved from <https://www.cac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Euthanasia.pdf>