

LABORATUVAR HAYVANLARININ DENEYSEL AMAÇLA PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ ALANINDA KULLANIM PROSEDÜRLERİ The Usage Procedure of the Laboratory Animals with Experimental Purpose in Prosthetic Dentistry

Mustafa ZORTUK¹ , Emel KIRIÇ²

Özet : Hayvanların insan modeli olarak kullanımı, tıp bilimleri ile paralel olarak gelişmiştir. Diş hekimliği ile ilgili çalışmalar da çok eski tarihlere dayanmaktadır. Hayvan modelleri protetik diş tedavisi alanında geniş alarak yer almıştır. Bu derlemede hayvan deneylerinin planlanması, kullanılacak hayvan modelinin seçimi, araştırma ve eğitimde izlenen etik prensipler ele alınmıştır.

Anahtar kelimeler: Laboratuvar hayvanları, hayvan deneyleri, protetik diş tedavisi

Batı tıbbının temeli, canlı hayvanların kesilerek incelenmesinin filozoflarca uygulandığı ilk yer olan Yunanistan'a dayanır. Bu dönemde tıp bilimi, canlılarının anatomilerinin öğrenilmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Daha sonraları fizyolojik deneyler uygulamaya başlanmıştır. On dokuzuncu yüzyıl sonlarından başlayarak, hayvan deneyleri giderek artmış ve biyomedikal araştırmalarının ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir (1-3).

Bu artışa katkıda bulunan faktörlerden bazıları şunlardır:

Anestezik ilaçların on dokuzuncu yüzyılın ilk yarısında keşfedilmesi: Bilim adamları anestezikleri kullanarak hayvan deneylerinde ağrıyı ortadan kaldırmayı,

Claude Bernard'ın "Deneysel Tıp Çalışmalarına Giriş (Introduction a l'étude de la Medecine Experimentale)" adlı eserinin 1865'de yayınlanması,

¹ Yrd.Doç.Dr.Erciyes Ün, Diş Hekimliği Fak, Kayseri

² Arş.Gör.Dt.Erciyes Ün, Diş Hekimliği Fak, Kayseri

Geliş Tarihi : 04.10.2010 Kabul Tarihi : 01.12.2010

Summary: Use of animals as human model has developed in parallel with medical science. Studies on dentistry go back to ancient times. Animal models have an important place in prosthetic dentistry. Planning the animal experiments, choosing the animal models, and the applying ethical principles, in research and education have been taken up in this review.

Keywords: Laboratory animals, animal experiment, prosthetic dentistry.

Mikrobiyoloji alanındaki gelişmeler: Mikropların oluşturduğu patolojilerin anlaşılmasına yönelik çalışmalar, hayvan kullanımını olumlu yönde etkilemiştir. Anti-serumların ve aşuların üretilmeye başlanması ve bu ürünlerin insan sağlığı yönünden hayvanlarda denenmesi,

Biyomedikal branşlarda (farmakoloji, toksikoloji, viroloji, immünoloji vb.) özellikle eczacılık endüstrisindeki gelişmeler (1).

Günümüze kadar, laboratuvar hayvanlarının kullanımında büyük artışlar ve düşüşler olmuştur. 1940 yılından 1970 yılına kadar ciddi artış gözlenirken hayvan kullanımı 1970'li yılların sonuna doğru hayvan deneyleri politik bir konu haline gelmiş ve batı ülkelerinde deney hayvanlarının korunmasını düzenleyen kanunlar hazırlanmış olması nedeniyle azalmaya başlamıştır (1,2).

Deney hayvanı olarak sık kullanılan türler; fare, sıçan(rat), kobay, tavşan, köpek, kedi, domuz ve koyundur (2).

Fare: En yaygın ev faresi ya da laboratuvar faresi olarak da adlandırılan *Mus musculus* tür. Üçüncü molar dişler hem alt hem de üst çenede küçük şekil-

lenir. Kesici dişler sürekli büyür, çiğnemeyle aşınırlar. Kesici dişlerin dudağa bakan yüzleri kalın bir diş minesi ile kaplanmıştır (2).

Rat: Farelerden sonra araştırmalarda en çok kullanılan omurgalı hayvanlardır. Diş hekimliği çalışmalarında iyi bir deney modeli oluşturduğundan önemli bir yer tutmaktadırlar. Diş hekimliği araştırmalarında kullanılan beyaz rat (*rattus norvegicus*) yabancı boz ratın değişik bir tipidir. Diş hekimliği çalışmalarında 250 gr ağırlığındaki ratlar tercih edilir. Genel anatomik özellikleri farelere benzer (1-3). Ratlarla çalışırken araştırmacının, leptospiralar, streptobasillus moniliformis kaynaklı enfeksiyonlara karşı koruyucu tüm önlemleri alması gerekir (1,4).

Tavşan: Laboratuvar hayvanı olarak Beyaz Yeni Zellanda soyu “*Oryctolagus cuniculus*” tercih edilir. Biyomedikal araştırmalarda kullanılan tavşan sayısı fare ve ratlara kıyasla oldukça düşüktür. Tavşanlar; toksisite, antiserum üretimi, biyolojik etkinliği olan maddelerin ölçümlendirilmesi, göz ve deri irritasyon testleri ve damar sertliği ile ilgili çalışmalarda kullanılır (2,4).

Köpek: İskelet ve kas yapısı genellikle insaninkine benzer. Doğumun 3. haftasında başlayıp 5. haftasına kadar sürmeye devam eden 28 adet süt dişi vardır. Süt dişleri küçük fakat çok keskindir. Tüm dişler mine ile kaplıdır, orta kesici dişler baş başa kapanışa gelirler, kaninler ve küçük azılar arasında diastemalar mevcuttur (4).

Koyun ve kobay da geniş deneysel çalışma alanına sahipken günümüzde maymun, domuz ve kedi hayvan modellerini kullanarak yapılan çalışmalar kısıtlıdır (1).

Hayvan Modellerinin Seçiminde Dikkat Edilmesi Gereken Kurallar

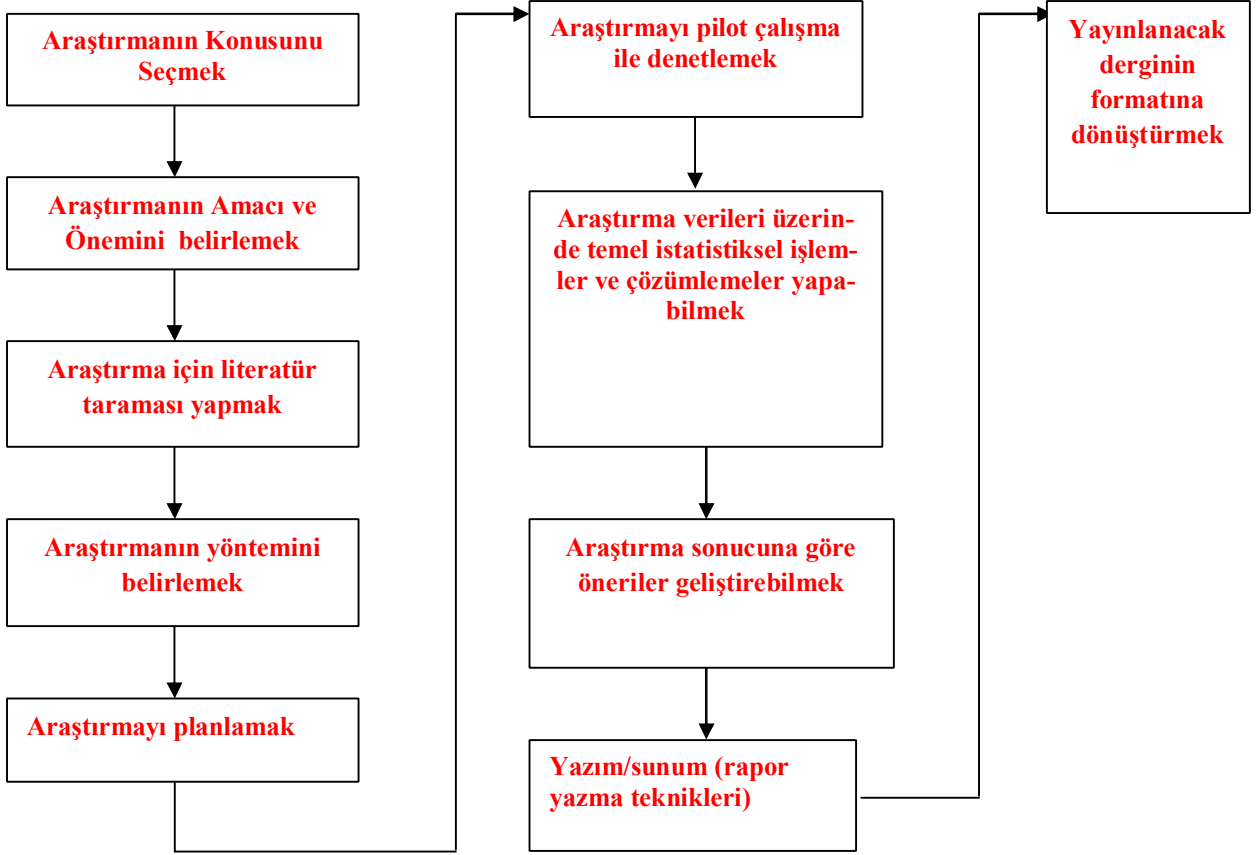
Araştırmalar için hayvan modelleri seçiminde çok dikkatli davranılmalı ve deneyler ayrıntılı bir şekilde planlanmalıdır. Bir hayvan modelinin seçilmesindeki aşamalar kısaca şu şekilde özetlenebilir:

1. Temel anahtar sorunun tanımlanması,
2. Temel anahtar elementin(hücre tipi, doku, organ, organlar arası iletişim vb.) ne olması gerektiğine karar verilmesi,
3. Hangi hayvan türü/soyunda bu temel anahtar elementin olduğunun belirlenmesi,
4. Anahtar elementi içeren hangi hayvan türü ya da soyunun teknik olarak daha avantajlı olduğu ve deneysel işlemlerden hangisinin en az düzeyde rahatsızlık hissedeceğinin belirlenmesi,
5. Hayvanların temini, barındırılması, bakımı, takibi, literatür bilgileri, hayvanlarla ilgili deneyim gibi uygulamadaki faktörlerin belirlenip gözden geçirilmesi,
6. Bilimsel uygulama ve etik yönlerden uygun bir hayvan modelinin seçilmesi (1,3).

Bir hayvan modelinin seçiminde, daha önce yapılmış benzer çalışmalarda kullanılan hayvan modellerine ait literatür bilgilerine bakılır. Fare, rat, tavşan, kobay gibi yaygın olarak kullanılan laboratuvar hayvanlarının temelinde çoğunlukla herhangi bir sorun yaşanmaz (1).

Araştırma planlanırken, araştırmacı öncelikle hayvan gerektirmeyen metodları (doku kültürü gibi), hayvan kullanımı yerine koymayı düşünmelidir. Hayvan kullanımı yerine uygun bir alternatif bulunamıyorsa, araştırmada deney hayvanı etik kurallar doğrultusunda kullanılmalıdır. Deney hayvanı olarak en az kompleks tür kullanılmaya çalışılmalıdır. (domuz, köpek yerine fare, sıçan gibi). Çalışma protokolü hayvan sayısını en aza indirecek ekilde olmalı ve kullanılacak olan dişi ve erkek sayısı mümkünse (çalışmanın gereği değilse) eşit olmalıdır. Ağrı ya da sıkıntı olduğunda mevcut işlem ve teknikler değiştirilerek hayvanın ağrı ve rahatsızlığı çalışmanın amacı dahilinde en aza düşürülmelidir (2).

Tablo I. Araştırmanın Planlanma Basamakları (6)



Araştırma ve eğitimde deney hayvanlarının kullanılmasında izlenen etik prensipler konusunda Avrupa Topluluęu'nun 20 Eylül 1985'te Strasbourg 'da aldığı bir kararla bilimsel çalışmalarda canlı hayvanların kullanılmasında uyulması gereken bazı kurallar belirlenmiştir. Buna göre, hayvanların ağrı, rahatsızlık, ızdırap veya fiziksel zarar görebileceği bir deney için kullanılmayacağı karara bağlanmıştır. Bu karara göre, ancak řu amaçların bir veya birkaçının geçerli olması durumunda hayvanlar üzerinde deney yapılabilir;

1. İnsanda normal fizyolojik mekanizmaların araştırılması,
2. İnsanları hastalıklardan koruma ile hastalıkların tanı ve tedavisini geliştirme yöntemlerinin araştırılması,

3. Çevrenin korunması,
4. Bilimsel araştırma,
5. Eğitim- öğretim,
6. Adli soruşturma (3,7,8).

Çalışmanın adı, çalışmanın amacı ve gerekçeleri, araştırmacılar, destekleyen kuruluş, çalışmanın özeti, çalışma ile ilgili daha önceden yayınlanmış bilgiler, çalışmada kullanılacak deney hayvanlarına ilişkin bilgiler (hayvanların tanımı ve sayısı, araştırmaya dahil olma ölçütleri, araştırmadan çıkarılma ölçütleri, araştırma süresi, yapılacak klinik ve laboratuvar testleri, çalışmaya son verilme ölçütleri, çalışma sonunda deney hayvanlarına yapılacak işlem) etik kurula sunulmalıdır (9).

Literatürde protetik diş tedavisi alanında yapılan çalışmalar 1960'lara kadar dayanmaktadır. Çalışmaların büyük bir kısmını biyouyumluluk çalışmaları oluşturmaktadır. 2004 yılında Mazzanti ve ark (10) yaptıkları çalışmada polivinil siloksan ölçü materyalinin tavşan derisine temas sonrası irritan özelliklerini incelemeyi amaçlamışlardır. 1997 yılında Barclay ve ark (11) yaptıkları çalışmada astarlama materyallerinin rat palatal mukoza-sındaki etkilerini araştırmayı amaçlamışlardır. Bu tip çalışmalarda dikkat edilecek unsurlardan biri ratların diğer tüm kemirgenler gibi kesici dişlerinin ömür boyu sürme eğiliminde olmasıdır. Bu nedenle deneylerde hayvan seçimi yapılırken hayvanların genel özellikleri detaylı bir şekilde öğrenildikten sonra uygun hayvan seçilmelidir.

1979 yılında Piliero ve ark (12) yaptığı çalışmada döküm alaşımların biyouyumluluğunu hamsterlar üzerinde karşılaştırmıştır. Bu çalışmada Suriye hamsteri yanak keseleri varlığı sebebiyle oral ortam şartların sağlanması açısından çok uygun bir hayvan modelidir. Bu çalışmada kullanılan method 1985 yılında Thomas ve ark (13) hamsterlar üzerinde rezinlerin biyouyumluluğu üzerine yaptığı çalışmada da kullanılmıştır.

1997 yılında Barclay ve ark (14) ratlar üzerinde yaptığı çalışmada protezin palatinal bölgesine diyetin etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Hayvan modellerinde günlük esas temizlik için apareyin uzaklaştırılamaması ve mukozadaki etkisinin protezle kaplanan dokunun artan periyodu sonucu olarak insandan farklı olmasından dolayı uygulanabilir bir yöntem değildir. Bu tür çalışmalarda seçilen yöntemin sınırları göz önünde bulundurulmalıdır.

1984 yılında Kallus ve ark (15) yaptığı çalışmada deri altı implantasyon methodu kullanılmıştır. Bu çalışmanın amacı protez kaide polimerlerinin deri altı implantasyonu sonrasında toksisitelerinin değerlendirilmesidir. 2008 yılında Neto ve ark (16) yaptığı çalışma farklı siyanoakrilat esaslı adezivlerin biyouyumluluklarının invivo nitel analizi üzerinedir. Bu çalışmada kullanılan deri altı implantasyon methodunun avantajları:

Hayvanlar için büyük bir bölge gerektirmemesi,

Bölgenin bakımının kolay olması,

Basit bir method olması (sert doku içermemesi ve laboratuvar işlemlerinin hızlı olması),

Benzer hayvanlarda doku cevabının karşılaştırılmasına izin vermesi,

Düşük maliyetli olmasıdır (16).

1979 yılında Smales ve ark (17) tazılarda subgingival restorasyonların plak birikimine etkisini incelemişlerdir. 2004 yılında Kohal ve ark (18) farklı kron konturlarının periodontal sağlığa etkisini köpekler üzerinde çalışarak incelemişlerdir. Bu tip periodontal durumun önemli olduğu çalışmalarda köpeklerin kullanılma sebebi gingivitis ve periodontitis olan köpeklerin insan periodontitisine benzer özellikler göstermesidir.

2001 yılında Kim ve ark (19) kafa ile ilişkili defektlerde platelet konsantrasyonu ve bunun kemik oluşumuna etkisini tavşan modeller kullanarak araştırmışlardır. Bu çalışma tavşanların platelet konsantrasi hazırlamak için oldukça uygun hayvan model olduğunu göstermiştir. Tavşanlar, farklı memeliler ve insan plateletlerine benzer ana yapı ve bileşenler içerirler. Hayvan modeli olarak tavşan kullanılmasının avantajları:

1) Kolay manuplasyon,

2) Platelet konsantrasi hazırlamak için yeterli kan miktarı,

3) Kemik metabolik aktivitesine benzer platelet varlığıdır (19).

1998 yılında Tanaka ve ark (20) overektomi ve yaşlanmanın ratların mandibuler kondillerine etkisini araştırmışlardır. Kallus ve ark (15) deney hayvanlarının deneyi tamamlayamaması sebebiyle istatistiksel başarısızlık ihtimali olan çalışmalarda belli sayıda fazla hayvan ile deney yürütülmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

1992 yılında Parr ve ark (21) köpeklerdeki implant çalışmalarının karşılaştırmasını yapmışlardır. Çalışmalarının sonucunda hayvan seçimi yaparken tek boyut implant yerleşimi için tüm hayvanların anatomi

mik olarak yeterli olmasını garantilemek için büyük hayvanlar seçilmesi gerektiğini ve bu tip çalışmalarda köpek modelinin güvenilir bir implant iyileşme reaksiyonu gösterdiğini belirtmişlerdir (21).

20. yüzyılda hayvanların deneysel kullanımı ile bilim ve tıp alanında çok önemli gelişmeler kaydetmiştir. Biyomedikal, davranış araştırmaları, eğitim ve testlerde hayvan kullanılması sırasında hayvan haklarının korunması ve etik prensipler göz önünde bulundurularak biyomedikal araştırmaların kalitesinin artırılması ve canlıların yararını sağlayacak biyolojik bilgilerin iletilmesi amaçlanmalıdır. Araştırma ve eğitim için hayvanların kullanımı her zaman etik kurallar içerisinde olmalıdır (22,23).

Deneysel araştırmada anlamlı bir sonuca ulaşabilmek için metodoloji ve iyi laboratuvar uygulama ilkelerine bağlı kalınması gereklidir. Araştırma planlanırken, araştırmacı öncelikle hayvan deneylerine alternatif olan teknikleri kullanmayı düşünmelidir. Hayvan kullanımı yerine uygun bir alternatif bulunamıyorsa araştırma deney hayvanı etik kurallara uygun kullanılmalıdır. Çalışma protokolü hayvan sayısını en aza indirecek şekilde olmalı ve deneye başlamadan önce mutlaka deney uygun istatistik yöntemi belirlenmelidir (22,23).

KAYNAKLAR

1. *Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri*, Ankara 2003.
2. *Kopaladze RA. The experiments with laboratory animals from a bioethical point of view-history, modern time, perspectives. Usp Fiziol Nauk 2004; 35: 92-109.*
3. *Guide for the care and use of laboratory animals*, National Academy of Science 2003.
4. *Uysal T, Ustdal A, Sonmez MF, Ozturk F. Stimulation of bone formation by dietary boron in an orthopedically expanded suture in rabbits. Angle Orthod 2009; 79: 984-990.*
5. *Zortuk M. Gloves used in dentistry for infection control. J Health Science 2009; 18: 38-41.*
6. *Kaptani S. Bilimsel Araştırma ve İstatistik Teknikler*, Ankara 1995.
7. *Rollin BE. An ethicist's commentary on cultural bias in animal use. Can Vet J 2004; 45: 555.*
8. *DeHaven WR. Best practices for animal care committees and animal use oversight. ILAR J 2002; 43: 59-62.*
9. *Türkiye'de klinik araştırmalar yasal düzenlemeler kılavuzu 2002.*
10. *Mazzanti G, Daniele C, Tita B, Vitali F, Signore A. Biological evaluation of a polyvinyl siloxane impression material. Dental Materials 2005; 21: 371-374.*
11. *Barclay SC, MacDonald DG, Watson IB. The effect of chairside relining materials on rat palatal mucosa. J Dent 1997; 25: 251-255.*
12. *Piliero SJ, Carson S, LiCalzi M, Pentel L, Piliero JA, Kaufman EG, Schulman A, Willigan DA. Biocompatibility evaluation of casting alloys in hamsters. J Pros Dent 1979; 41: 220-223.*
13. *Thomas GP, Adrian JC, Banks KE, Robinson JA, Peagler FD. Biocompatibility evaluation of resins in hamsters. J Prost Dent 1985; 53: 428-30.*
14. *Barclay SC, MacDonald DG, Watson IB. The effect of diet on palatal prosthetic coverage in rats. J Dent 1997; 25: 71-8.*
15. *Kallus T. Evaluation of the toxicity of denture base polymers after subcutaneous implantation in guinea pigs. J Pros Dent 1984; 52: 126-134.*
16. *Moretti Neto RT, Mello I, Moretti AB, Robazza CR, Pereira AA. In vivo qualitative analysis of the biocompatibility of different cyanoacrylate-based adhesives. Braz Oral Res 2008; 22: 43-47.*

17. Smales RJ, Nixon KC, Joyce KP. Effects of subgingival restorations in beagle dogs. Part I: Plaque formation. *J Pros Dent* 1979; 41: 401-410.
18. Kohal RJ, Pelz K, Strub JR. Effect of different crown contours on periodontal health in dogs: Microbiological results. *J Dent* 2004; 32: 153-159.
19. Kim E, Park J, Choung P. Platelet concentration and its effect on bone formation in calvarial defects: An experimental study in rabbits. *J Prost Dent* 2001; 86: 428-433.
20. Tanaka M, Ejiri S, Kohno S, Ozawa H. The effect of aging and ovariectomy on mandibular condyle in rats. *J Prost Dent* 1998; 79: 685-90.
21. Parr GP, Gardner LK, Steflink D, Sisk AL. Comparative implant research in dogs: A prosthodontic model. *J Pros Dent* 1992; 68: 509-514.
22. Oral M,  akar S. Deneysel hayvan araştırmalarındaki etik prensipler. *Anestezi Dergisi* 2005; 13: 75-82.
23. Bařer NT, Ateř L, Aslan G. Laboratuvar hayvanlarında deneysel  alışma: Nasıl planlanır? Nasıl gerçekleştirilir? *MN Klinik Bilimler & Doktor* 2005; 11: 155-159.