

Hayvan Çalışmalarında Planlama ve Uygun Model ve Denek Seçimi Nasıl Yapılmalı?

Planning Experimental Studies and Selection of an Available Animal Model?

Sibel Naycı

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

Özet Abstract

Deneyel tıp araştırmalarında özellikle de farmasötik gelişmeler ve moleküler yolak çalışmalarında hayvanların kullanımı oldukça yaygındır. Bu bölümde hayvanların kullanıldığı deneyel araştırmalarda planlama safhası ve hayvan çalışmalarında uygun model ve denek seçiminin nasıl yapılacağı konuları gözden geçirilmesi amaçlanmıştır. Planlama deneyin en önemli kısmı olup, konu seçimi, gözlem, bilgi toplama, orijinal fikir ya da problemin ortaya konulması, amaç, değişkenlerin belirlenmesi ve hipotez gibi belli safhalardan geçer. Deneyel bir hayvan modeli oluştururken, bu modelin insanlardaki kliniğe en iyi şekilde uyarlanabilmesi açısından deneyel hayvan modelinin seçimi oldukça önem taşır. Hayvan seçiminde soy, spontan hastalıklı, transgenik hayvan ve saf döl gibi özelliklere dikkat edilmelidir. Kullanılan 4 hayvan modeli vardır: 1) İndüklenmiş, 2) Spontan, 3) Negatif ve 4) Olası (orphon) model. Sonuç olarak, seçilen hayvan modeli ne olursa olsun modelin çok iyi tanımlanması önemlidir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Deneyel araştırma, hayvan çalışması, model, planlama

Animal models have been extensively used in experimental medical research, particularly in studies of pharmaceutical and molecular pathways. This review will summarise the issues scientists face in planning experimental studies and selecting an available animal model. Planning is the most important part of the experiment, and it can be divided into certain stages, including subject selection, observation, data collection, determination of the original idea or the problem, purpose, selecting the variables, and developing a hypothesis. When creating an experimental animal model, choosing an experimental animal model is very important for adapting this model to the clinic in humans. Some characteristics of animals, such as race, spontaneous disease development, and transgenic animals, should be considered during animal selection, and experiments should be carefully planned. There were four animal models used: (i) Induced Models, (ii) Spontaneous models, (iii) Negative Models, and (iv) Orphon Models. As a result, the selected animal model, no matter what the model is, should be very well defined.

KEY WORDS: Experimental study, animal study, model, planning

GİRİŞ

Deneyel araştırma, herhangi bir konuyu aydınlatmak, bir soruna çözüm getirmek, belirli kavramlara, kuramlara ya da yasalara ulaşabilmek için yapılan planlı ve bilimsel bir çalışma olarak tanımlanabilmektedir [1,2].

Deneyel tıp araştırmalarında hayvanların kullanımı, özellikle farmasötik gelişmeler ve moleküler yolak çalışmalarında oldukça yaygındır [3-6].

Deneyel araştırmaların 4 safhası vardır [7-12]:

1. Deneyin Planlanması
2. Deneyin Yürütülmesi
3. Sonuçların Değerlendirilmesi
4. Yayınlama

Bu bölümde hayvanların kullanıldığı deneyel araştırmalarda planlama safhası ve hayvan çalışmalarında uygun model ve denek seçiminin nasıl yapılacağı konuları gözden geçirilecektir.

Hayvan Çalışmalarında Planlama

Planlama deneyin en önemli kısmıdır. Deney planı; araştırma, bilgi, beceri ve deneyim isteyen bir süreçtir. Araştırmanın bütün ayrıntıları iyi düşünüldükçe planlanmazsa araştırmanın herhangi bir aşamasında ya da araştırmanın tümünde başarı-



Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Sibel Naycı, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye Tel: +90 324 337 43 00-1148 E-posta: satis@mersin.edu.tr

©Telif Hakkı 2013 Türk Toraks Derneği - Makale metnine www.toraks.dergisi.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2013 by Turkish Thoracic Society - Available online at www.toraks.dergisi.org

sızlığa düşülebilir. Araştırma planı, bağımlı ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkileri test etmek için düzenlenir. Bu planda hangi gözlemlerin ve işlemlerin yapılacağı, nasıl yapılacağı, bunların nasıl değerlendirileceği gibi bilgiler bulunmalıdır [7-12].

Deney hayvanına dayalı araştırmanın planlama süreci belli safhalardan geçer:

1. Konu seçimi
2. Gözlem
3. Bilgi Toplama
4. Orijinal fikir ya da problemin ortaya konulması
5. Amaç
6. Değişkenlerin belirlenmesi
7. Hipotez

1. Konu seçimi: Yapılacak deneyle ilgili konu seçiminde aşağıda sıralanan belli noktalara dikkat edilmesi gerekir.

Rasyonellik: Seçilen araştırma konusunun ne derece rasyonel olduğu. Neden sonuç ilişkisinin iyi belirlenmesi gerekir.

Ülke yararı: Yapılacağı ülkenin önceliklerine göre uygunluk taşıyıp taşımadığı.

Gerekliklik: Gerçekten yapılmaya değer olup olmadığı. Çıkacak sonuçların tıbbi katkısının neler olabileceği.

Uygulanabilirlik: Hayvanlar üzerinde elde edilecek sonuçların insan organizmasına ne derece uygulanabilir olduğu.

Tekrarlanabilirlik: Aynı koşulların sağlandığı tüm ortamlarda deneyin tekrarlanabilir olması.

Devamlılık: Seçilen konuda yapılan çalışmanın daha sonra yapılacak çalışmalarla desteklenmesi ve devamının sağlanması.

2. Gözlem: Araştırmaya başlarken ilk adım gözlenen olayın doğru bir şekilde kaydedilmesidir. Gözlemden tamamen ön yargısız olunmalı ve olayların olduğu gibi değerlendirilmesi gerekir.

3. Orijinal fikir ya da problemin ortaya konulması: Problem en basit şekli ile ortaya konulmalıdır. Bazen problemin parçalara bölünüp ayrı ayrı cevaplanması gerekebilir [13].

4. Bilgi toplama: Planlanan deney ile ilgili bilgi toplamada literatür taraması önemlidir. Bunun için PubMed taraması başlangıç için uygundur. Mümkün olduğunca dar bir araştırma yapılmalı; uygun anahtar sözcükler seçilmeli. Literatür taraması yanında temel bilgilerin ve klasik kitapların da gözden geçirilmesi gerekir. Literatürde yeni olarak gözlenen bir konunun yıllar önce çalışılıp klasik bilgiler arasında kaybolabileceği olasıdır. Literatür taranırken derleme yazılara da dikkat edilmelidir [14].

5. Amaç: Deneyin amacının özeti yapılmalı. Özellikle niçin hayvan kullanılacak? Çalışılacak konu ile ilgili alternatif çalışmaların yetersizliği vurgulanmalı.

6. Değişkenlerin belirlenmesi: Neden sonuç ilişkisi bulunmaya çalışılır. Değişkenler bağımsız ve bağımlı değişken olmak üzere iki gruba ayrılır. Bağımlı değişken, deney sonunda değiştirilmek istenen ya da değişip değişmediği gözlenen niteliklerdir. Bağımsız değişkenler ise bu deney çerçevesinde yer alan ancak bağımlı değişken dışında yer alan değişkenlerdir.

7. Hipotez kurulması: Hipotez, bir deneyle test edilebilen sorudur. Hipotez, denenecek fikir ya da öneri olup, yeterli testler yapılmadan önce kabul edilmesi imkansızdır. Ancak genellikle tek bir hipotez için tek bir cevap bulunur. Hipotezi test etmek için en azından bir deney yapılmalıdır. Kurulacak hipotez deneyle test edilebilmeli ve neden sonuç ilişkisine cevap verebilmelidir.

Deney hayvanına dayalı araştırmanın planlanmasında dikkate alınması gereken başlıca temel noktalardan biri hayvan deneyinin standartlara uymasıdır. Çalışmalarda kullanılacak hayvanların, çevresel ve deneysel koşullarının sabit olarak tutulması veya kontrol altına alınması anlamına gelir. Standartlaşma bir deneyden elde edilen verilerin ortalama-sının, deney tekrarlandığında aynı veya yakın sonuçlar üretilebilmesini amaçlar. Bu da, aynı laboratuvarlarda veya diğer laboratuvarlarda yapılan aynı veya benzer çalışmalar-dan elde edilen veriler arasında yakınlığın artmasını ve dolayısıyla araştırma sonuçlarına duyulan güvenin artmasını sağlar [15].

Deney hayvanına dayalı araştırmanın planlanmasında dikkate alınması gereken başlıca temel noktalardan bir diğeri de çalışma planının etik kurallara uygun olarak oluşturulmasıdır. Hayvan çalışmalarında deneyin planlanması ve yürütülmesi aşamalarında başlıca etik kurallardan biri olan 3 R kuralı (Reduction, Refinement ve Replacement) uyulmalıdır [16-18]:

Yerine Geçirme (Replacement): Aynı amaca ulaşacaksa, filogenetik skalada daha yüksekte yer alan hayvan yerine daha aşağıda bulunan hayvanı kullanma.

Azaltma (Reduction): Çalışma amacına ulaşmaya yetecek minimum sayıda deney hayvanı kullanmak. Bunu sağlamak için pilot çalışma uygulamak, istatistik uzmanına anlamlılık için gerekli hayvan sayısı konusunda danışmak, hastalık, stres gibi deney sonuçlarını etkileyebilecek değişkenleri en aza indirmek, uygun hayvan türünü kullanmak ve tekrar çalışmalardan kaçınmak gereklidir.

Arındırma (Yöntemin olumsuz yönlerini azaltma ve verimliliği artırma) (Refinement): Her deney hayvanından elde edilecek bilgiyi arttırmak ve ağrılı acılı işlemleri azaltmaya çalışmak.

Hayvana dayalı araştırmaların planlanmasında deneyin doğruluğunu etkileyebilecek etkenleri de göz önüne alma zorunluluğu vardır. Bu etkenleri maddeler halinde aşağıdaki şekilde özetleyebiliriz:

Deneyin doğruluğunu etkileyen etkenler

A. Yan tutmak: Deneye katılanları gruplara ayırırken yan tutma olabilir ki bu tür kuşkuları önlemek için araştırmaya katılacak denekler deney ve kontrol gruplarına rasgelelik yöntemiyle (randomizasyonla) ayrılır. Araştırma sonuçlarının geçerli olabilmesi için benzerlik testleriyle deney ve kontrol gruplarının benzer oldukları gösterilmelidir.

B. Yeter sayıda denek üzerinde çalışmamak: Bir araştırmada denek sayısı ne kadar çoksa alınan sonuç o kadar gerçeğe yakın olur. Ancak sayıyı gereksiz olarak arttırmak maliyeti arttıracaktır. Hatta olanakların çok sayıda denek için harcanması aşırı yoğunluk nedeniyle hata yapma riski artabilir. Az sayıda denek alırsak tek bir rakam değişikliği bile sonuçlarımızı etkileyebilir.

C. Kontrol grubu kullanmamak: Hemen her tip araştırmada kontrol grubuna gerek vardır. Kontrol grubu kullanmanın amacı deney esnasında bilinmeyen ve da kontrol edilemeyen değişkenlerin etkisini ve tesadüf ihtimalini ortadan kaldırmaktır. Kontrol grubu kullanılan araştırmalarda bir gruba incelenen etken etki ettirilir; bu gruba deney grubu denir. Diğer gruba etken etki ettirilmez; bu gruba da kontrol grubu denir. Deney ve kontrol gruplarındaki deneklerin araştırma için önemli bazı değişkenler yönünden benzer olmaları önemlidir.

D. İncelenen konunun özelliğine uygun ölçü bulamamak: İncelenen etkenin etkisini en doğru biçimde ortaya çıkaracak ya da gösterecek ölçüye parametre adı verilir. Parametrenin ne olacağına araştırmanın başında, planlama aşamasında karar verilmelidir. Burada önemli olan nokta parametrenin incelenen etkiyi doğru ölçmesidir.

E. İncelenen bağımlı değişkene etki edebilecek bağımsız değişkenleri iyi seçememek: İki etken (değişken) arasındaki ilişki her zaman neden - sonuç ilişkisi değildir. İkisi de başka bir etkenin (değişkenin) etkisiyle ortaya çıkabilir. İki değişken arasında ilişki saptandığında her iki değişkenin başka bir değişkene bağımlı olup olmadıkları incelenmelidir.

F. Uygun olmayan istatistiksel teknikleri kullanmak: Deneyin planlanmasından önce araştırıcı istatistiksel olarak danışmalıdır. Uygun bir istatistik çalışma yapabilmek için her grupta yeterli sayıda ve en az hayvan kullanılmalıdır. Bir araştırmada uygun olmayan istatistiksel tekniklerin kullanılması, elde edilen sonucun hatalı ve yanlış olmasına yol açar [19,20].

G. Karşılaştırılamayacak durumları karşılaştırarak karara varmak.

H. Sonuçları doğru yorumlayamamak.

İ. Veri toplama ilkelerine uygun biçimde veri toplayamamak.

DENEYSEL HAYVAN MODELİ SEÇİMİ

Laboratuvar hayvan modeli, normal biyoloji ya da davranışların çalışılabileceği, kendiliğinden ya da indüklenmiş bir patolojik durumun araştırılması ve bir biyolojik işlev yönünden insan ya da diğer hayvan türlerine benzerlik gösteren hayvanların kullanıldığı model olarak tarif edilir. Deney hayvanı, hipotezi bilimsel kurallara göre kurulmuş

araştırmalarda ve biyolojik testlerde kullanılan hayvanlardır. En çok kullanılan deney hayvanları sıçan, fare ve tavşandır. Kobay, hamster, köpek, kedi, domuz, maymun da orta düzeyde kullanılan deney hayvanlarıdır [6,9,10,21].

Deneysel bir hayvan modeli oluştururken, bu modelin insanlardaki kliniğe en iyi şekilde uyarlanabilmesi açısından deneysel hayvan modelinin seçimi oldukça önem taşır. Hayvan seçiminde soy, spontan hastalıklı, transgenik hayvan ve saf döl gibi özelliklere dikkat edilmeli ve planlanan deneye ait özellikteki hayvanlar seçilmelidir. Deneysel araştırmada kullanılması planlanan türe ait anatomik, fizyolojik ve davranış karakterlerinin bilinmesi, araştırmanın amacına uygun olarak devam ettirilebilmesi ve tamamlanabilmesi için mutlaka gereklidir. Hayvan modeli her zaman orijinal durumu tam olarak temsil etmez; yani model asla prototipinin aynı değildir [21]. Modeller asla son sözü sağlamaz, ama yaklaşık bir fikir verir. Yeni modellerin tanımlanması için literatür araştırması yapıp, hangi modelin mümkün ve gerçekçi olduğu belirlenmelidir.

Kullanılan 4 hayvan modeli vardır.

i) İndüklenmiş modeller: Bu modelde amaç; cerrahi yolla ya da kimyasal maddelerle hayvanlarda deneysel olarak oluşturulan hastalıkların hedef organizmada görülenlere benzemesidir. Örneğin sigara dumanı ile amfizem oluşturmak gibi. Teorik olarak bu modeller tür seçimi yapmayı mümkün kılan tek modeldir. Genomlarına yapay olarak yerleştirilmiş DNA içeren hayvanlarda transgenik modeller de indüklenmiş modeller grubuna girerler. Transgenik modeller için tercih edilen tür faredir.

ii) Spontan modeller: Genetik olarak kendiliğinden gelişen ve insanlardaki hastalığa benzer patoloji ve semptomlar gösteren hayvanlarda geliştirilen modelleridir. Çeşitli hastalıklarla ilgili spontan modelleri oluşturmak için doğal olarak genetik varyantlardan yararlanılır. Doğal mutant formun en iyi bilinen örneği atimik farelerdir.

iii) Negatif modeller: Bazı hastalıkların hiç gelişmediği hayvan türü ya da soyları vardır. Hemen hemen spontan modellerin zıttı bir durum olarak; örneğin tavşanlarda gonokok enfeksiyonu gibi özel bir durumun geliştirilemediği negatif modeller de vardır. Negatif modellerde hayvan bilinen bir uyarıya reaksiyon göstermez.

iv) Olası (Orphon) modeller: Bazı hastalıklar önce hayvanlarda tanımlanmış, daha sonra insanlarda benzeri tanımlanabilir amacı ile çalışılan modellerdir. Daha sonra benzer bir hastalık insanlarda görülürse model adapte edilir. Papillomatozis, deli dana hastalığı buna örnek gösterilebilir.

Deneysel hayvan modeli oluştururken doğru model nasıl seçilir?: Aşağıdaki maddelere dikkat edilmesi gereklidir:

a) Temel anahtar sorunun iyi tanımlanması: Doğru model seçiminde ilk belirlenmesi gereken önemli noktadır.

b) Uygun laboratuvar hayvanı seçimi: Doğru model seçiminde verilmesi gereken bir diğer önemli karar seçilen hayvanın türü, soyu ve cinsidir. Yapı ve fonksiyonları insana benzediği için memeliler deneysel çalışmalarda sık kullanılır. Sıçanlar,

fare, kobay ve hamsterler küçük olmaları, yaşam sürelerinin kısalığı, manüplasyonlarının kolaylığı ve kolay üretilebildikleri için tercih edilirler. Hastalık patogenezi yani insanlardaki hastalık sürecine benzerlik açısından uygun hayvan türünün seçimi önemlidir. Her bir hayvan türünün kendine göre zayıf ve güçlü yanları olup, araştırmacı bunlar arasından test edeceği hipotez açısından en uygun modeli seçebilmelidir. Hayvanda bir hastalık modeli oluştururken bazı hayvanların insanlardaki hastalık sürecine tam benzer gösterdiği (spontan modeller), ancak bazılarının tam fenotipik özellikleri göstermediği akıldaki tutulmalıdır [22].

Deneyin özelliğine göre aşağıda yetiştirilme sistemlerine ve mikrobiyolojik özelliklerine göre uygun hayvan seçimi yapılabilir:

Yetiştirilme özelliklerine göre laboratuvar hayvanı seçimi [6,15]

Inbred: Bir ana babadan doğan yavruların çiftleştirilerek yapılan üretim şeklidir. Bunun amacı genetik heterojeniteyi azaltıp homojeniteyi artırarak genetik değişkenliği azaltmaktır. En sık kullanılan yöntem erkek-kız kardeşlerin ya da genç ana baba ile yavrusunun çiftleştirilmesidir.

Outbred: Aynı stoktan hayvanların rastgele çiftleştirilmesidir. Inbred ratlar outbred ratlar ile karşılaştırıldığında çevresel faktörlere karşı daha duyarlıdır.

Selektif breeding: Birbiri ile ilişkisiz anne ve babanın çiftleştirilmesi ile farklı özelliklerin elde edilmesi istenir.

Crossbreeding: İki farklı inbred popülasyondan olan hayvanların çiftleştirilmesidir. Fizyolojik olarak anne ve babalarından daha üniformdurlar. Ancak genetik üniformite istenildiğinde kullanılamazlar.

Mikrobiyolojik Durumlarına Göre Hayvanların Sınıflandırılması [6,23]

Laboratuvar hayvanları hijyenik durumlarına göre sınıflandırılırlar. Planlanan deneyin özelliğine göre laboratuvar hayvanları mikrobiyolojik özelliklerine göre seçilebilir:

Axenik: Tamamen mikroorganizmadan arındırılmış hayvanlardır. Histerektomi ile elde edilirler ve isolatörlerde germ-free tekniklerle büyütülürler.

Gnotobiotic: Axenik hayvan gibidirler ancak patojen olmayan az sayıda mikroorganizma bulunabilir.

Spesifik Patojen Free: Özel patojen etkenlerden arıtılmış hayvan

Monitörize: Düşük emniyetli barier sistemi ile barındırılan hayvan. Tekrarlayan kontrollerle majör patojenlerden arındırılmış olduğu gösterilir.

Konvansiyonel: Bilinmeyen ve kontrol edilmeyen mikrobiyal flora ya sahip hayvan. Deneyisel çalışmalar için uygun olmaktadır. Deneyisel çalışmalarda kullanılacak laboratuvar hayvanının belli periyotlarda sağlık yönünden değerlendirilmesi yapılmış olmalı ve sağlıklı hayvanda deney yapılmalıdır.

c) Bilimsel, uygulama ve etik yönlerden uygun bir hayvan modeli seçilmelidir: Randomize seçim olmalı, en az komp-

leks tür seçilmeli, araştırma için gerekli en az denek sayısı hesaplanmalı ve buna uyulmalıdır.

Özetle, seçilen hayvan modeli ne olursa olsun model çok iyi tanımlanmış olmalıdır. Diğer araştırmacılara modelin yol gösterici olması için soy, alt soy ve mümkünse genetik özellikleri uygun uluslar arası tanımları dikkate alınarak ifade edilmelidir. Hayvanın mikrobiyolojik durumu ve florası dikkate alınmalı ve belirtilmelidir. Hayvanların normal yaşamları, diyet ve barınma olanakları ve yaşı muhakkak dile getirilmelidir. Enfeksiyon ile ilgili çalışmalarda inokulum nasıl hazırlandığı, dozu ve nereden uygulandığı belirtilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Özgür S. Sağlık Alanında Araştırma Yöntemleri. Gaziantep: Gaziantep Üniversitesi Matbaası, 1999.
2. Cook DJ, Mulrow CD, Haynes RB. Systematic reviews: synthesis of best evidence for clinical decisions. Ann Intern Med 1997;126:376-80. [\[CrossRef\]](#)
3. Wolfensohn S, Lloyd M. Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare. Second Ed., Blackwell Science Ltd., 1998.
4. Baumans V, Beynen AC, Zutphen LFM. Principles of Laboratory Animal Science: A Contribution to the Humane Use and Care of Animals and to the Quality of Experimental Results. Amsterdam: Elsevier, 1993.
5. Roberts I, Kwan I, Evans P, Haig S. Does animal experimentation inform human healthcare? Observations from a systematic review of international animal experiments on fluid resuscitation. BMJ 2002;324:474-6. [\[CrossRef\]](#)
6. Festing MFW, Gaines PO, Cortina BM, Manuel B. The Design of Animal Experiments. London: The Royal Society of Medicine Press Limited, 2002.
7. Peters JL, Sutton AJ, Jones DR, et al. A systematic review of systematic reviews and meta-analyses of animal experiments with guidelines for reporting. J Environ Sci Health B 2006;41:1245-58. [\[CrossRef\]](#)
8. Atış S, Çömelekoğlu U, Coşkun B, et al. Electrophysiological and histopathological evaluation of respiratory tract, diaphragm and phrenic nerve after dichlorvos inhalation in rats. Inhal Toxicol 2002;14:199-215. [\[CrossRef\]](#)
9. Festing MF, Altman DG. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. ILAR Journal 2002;43:244-58.
10. Maxwell SE, Delaney HD. Designing experiments and analyzing data. Belmont, California:Wadsworth Publishing Company, 1989.
11. Mead R. The design of experiments. New York: Cambridge University Press, 1988.
12. Montgomery DC. Design and analysis of experiments. New York :Wiley, 1997.
13. Mignini LE, Khan KS. Methodological quality of systematic reviews of animal studies: a survey of reviews of basic research. BMC Med Res Methodol 2006;6:10. [\[CrossRef\]](#)
14. Lemon R, Dunnett SB. Surveying the literature from animal experiments. BMJ 2005;330:977-8. [\[CrossRef\]](#)
15. Gjerde EAB, Eide DM, Bronstad A, Reed RK. Problems in physiological experimental animal models investigated with factorial design. J Exp Animal Sci 2004;43:1-12. [\[CrossRef\]](#)
16. Balls M. Replacement of animal procedures: alternatives in research, education and testing. Laboratory Animals 1994;28:193-211. [\[CrossRef\]](#)
17. Flecknell P. Replacement, reduction and refinement. Altex 2002;19:73-8.
18. Good Practice Guidelines. Laboratory Animal Science Association Publishings. 2001;2:1.

19. Altman DG. Practical statistics for medical research. London, Glasgow, New York: Chapman and Hall, 1991.
20. Howell DC. Fundamental Statistics for the Behavioral Sciences. London, New York: Duxbury Press, 1999.
21. Utkan ZN, Cantürk NZ. Deney Hayvanlarının ve Deney Modellerinin Seçimi. İç: Cantürk NZ ve Sayek İ, ed. Cerrahi Araştırma. İstanbul: Nobel Matbaacılık; 2005:125-9.
22. Pauwels RA, Germonpre PR, Kips JC, Joos GF. Genetic control of indirect airway responsiveness in the rat. Clin Exp Allergy 1995;25:55-60. [\[CrossRef\]](#)
23. Heidt PJ, Koopman JP, Kennis HM, et al. The use of a rat derived microflora for providing colonization resistance in SPF rats. Lab Anim 1990;24:375-9. [\[CrossRef\]](#)