

Deneysel araştırma yöntemleri

Hamit OKUR

İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi, İstanbul

Öz

Deneysel araştırmanın tıbbın gelişmesinde önemli bir yeri vardır. Hayvan deneylerinin tarihçesinde 17. yüzyılın sonları ile 18. yüzyılda başta İngiltere olmak üzere bazı yasal düzenlemelerin yapıldığını görmekteyiz. Daha sonra ise Avrupa Birliği bünyesinde üye ülkelerin uymak zorunda oldukları birtakım düzenlemeler ve standartlar geliştirilmiştir. Ülkemizde de 2004 yılında Hayvanları Koruma Kanunu ile başlayan ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu ve Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurullarının kurulması ile gelişen yasal ve etik düzenlemeler yapılmıştır. Hayvanlar üzerinde çalışma yapacak araştırmacıların öncelikle yapacakları araştırmanın bilime ne ölçüde katkı yapacağını sorgulamaları gerekir. Hayvanların da acı, ağrı duyan bir canlı olduklarını ve yaşama özgürlüklerinin bulunduğu her zaman akılda tutulmalıdır. Araştırmacıların yönetmelik gereği 80 saatlik eğitimi almaları zorunludur. Deneysel bir çalışmanın başarısı seçilen türün uygun olup olmadığına, genetik ve mikrobiyolojik standartlara ve çevresel faktörlere bağlıdır. Yine araştırmacılar deneyin planlama, yürütme ve değerlendirme süreçlerinde özellikle 3R olarak belirlenen etik konulara (öncelikle alternatif yöntemlerin düşünülmesi, kullanılacak hayvan sayısının minimum olması ve hayvan refahı), asepsi ve antisepsi kurallarına ve cerrahi prensiplere uymak zorundadırlar. Kısaca, insan üzerinde yapılan cerrahi işlemlerdeki uyulması gereken kuralların hayvan deneyleri için de geçerli olduğu bilinciyle deneysel araştırmaların yapılması gerekir.

Anahtar kelimeler: Deneysel araştırma, deney hayvanı, cerrahi araştırma

Abstract

Experimental research methodologies

Animal experimental research has played a central role in the development of medicine. Animals have been used in research and experimentation since the medical research beginning. Late in the 17th century and 18th century regulations were passed in the UK and other countries against cruelty to animals. Later on European countries reached an agreement on the regulations and standardization of laboratory animals and experimental studies. Animal Protection Law was issued in our country in 2004 and Animal Experimentation Central Ethics Committee and Animal Experimentation Local Ethics Committees were established. National standards for laboratory animals production and research centers have been determined; training and educational features have been disciplined. All researchers are required to obtain 80 hours training. When planning the experimental research, the contribution of the study to science must be questioned first. Animals also, are living creatures, they suffer pain and distress, and they have freedom to live. Success or failure in any experimental study depends on the choice of a species, genetic background, microbial status, and environmental factors. Each investigator is obliged to convey the 3Rs (replacement, reduction, refinement) ethical principles, the rules of asepsis and antiseptic and surgical principles. It should be noted that the rules for surgical procedures on human are also valid for experimental studies.

Key words: Experimental research, laboratory animals, surgical research

Giriş

Tıbbın gelişmesinde ve günümüzdeki safhaya gelmesinde hayvan deneylerinin rolü bilinen bir gerçektir. Bundan sonraki gelişmelerin de hayvan deneylerinin katkısı ile gerçekleşeceği kesindir. Deneysel araştırma, deney hayvanları üzerinde yapılan her türlü bilimsel araştırma olarak tanımlanmakla birlikte, son yıllardaki doku kültürü ve embriyo çalışmaları da

deneysel araştırma kapsamında yerini almışlardır. Deneysel çalışmalar esas olarak yeni bir ürün elde etmek, hastalıkların nedenini araştırıp tedavisine yönelik ilaç ve diğer uygulamaların etkinliğini ortaya koymak, yeni cerrahi yöntemler geliştirmek ya da hayvan sağlığı konularında yapılmaktadır. Deneysel araştırmada esas olarak hayvanlar üzerinde yapılacak çalışmanın gerekliliği ve alternatif yöntemlerin yeterli olup olmadığı sorgulanmalıdır. Hayvan deneyi yapacak bir araştırmacı öncelikle hayvanların da insanlar gibi canlı bir varlık olduğu ve yaşam hakkına sahip olduğunu bilmesi gerekmektedir. Geçmişte sorgusuz ve sınırsız bir şekilde yapılan hayvan deneyleri, hayvan hakları savunucularının da katkıları ile zamanla

Alındığı tarih: 8 Şubat 2016

Kabul tarihi: 11 Mart 2016

Yazışma adresi: Prof. Dr. Hamit Okur, İstanbul Medeniyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi, İstanbul

e-mail: okurhamit@yahoo.com

hayvan hakları açısından daha koruyucu bir yapıya bürünmüştür. Bu konuda ilk olarak İngiltere’de 1876 yılında “The Cruelty to Animals Act”ın kabul edilmesiyle hayvan deneylerinde etik konular önemsenmeye ve dikkate alınmaya başlanmış ve canlı hayvanlar üzerinde yapılacak deneylerin ancak izinle ve kontrol altında, anestezi uygulanarak ve bilimsel amaçla yapılabileceği kararlaştırılmıştır. Daha sonraki yıllarda birçok ülkede hayvan deneyleri ve etik konularında yasalar çıkarılmış ve deneysel çalışmalar özellikle etik açıdan kontrol altına alınmaya çalışılmıştır ^(1,2). Avrupa Birliği bünyesinde 1986 yılında “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123) ayrıca “COUNCIL DIRECTIVE of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes (86/609/EEC)” Deneysel ve Diğer Bilimsel Maksatlarda kullanılan vertebralı hayvanların korunmasına dair Avrupa Konseyi yönergesi’nin kabul edilmesi ve üye ülkelerin bu yönergedeki kararları imzalamasıyla Avrupa Birliği bünyesinde deney hayvanlarının üretimi, barınma ve beslenme koşulları ve deneylerde kullanılmalarına dair belli kurallar getirilmiştir ⁽³⁾. Geniş kapsamlı bu yönergede etik dahil deney hayvanlarını ilgilendiren bütün konuları kapsamaktadır. Ülkemizde de geçmiş yıllarda bazı çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, bu konudaki ilk yasal düzenleme 1 Temmuz 2004 tarih ve 25509 sayılı Resmi Gazete’de yayımlanarak yürürlüğe giren 5199 sayılı Hayvanları Koruma Kanunu ile hayvan deneyleri Tarım ve Köyişleri Bakanlığının kontrolüne verilmiştir ⁽⁴⁾. Bu bakanlık tarafından çıkarılan “Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Deney Hayvanlarının Korunması, Deney Hayvanlarının Üretim Yerleri ile Deney Yapacak Olan Laboratuvarların Kuruluş, Çalışma, Denetleme, Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik” ⁽⁵⁾ ile de deneysel çalışmalara düzenlemeler getirilmiştir. Bu bakanlığın adı daha sonra Çevre ve Orman Bakanlığı olarak değişmiş ve hayvan deneyleri Çevre ve Orman Bakanlığı bünyesine alınmıştır. Bu bakanlık tarafından Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik ⁽⁶⁾ ile Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu (HADMEK) oluşturulmuştur. HADMEK esas olarak yönetmelik kapsamında görevleri yerine getiren, yerel etik kurullarla koordinasyonu sağlayan çeşitli kurum ve kuru-

luş temsilcilerinden oluşan kuruldur. Yine yönetmelik kapsamında Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulları (HADYEK) oluşturulmuştur. HADYEK ise kurum/kuruluşlarda, bilimsel araştırma, test, tıbbi uygulamalar ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde deney hayvanları ile yapılacak işlemleri asgari etik ilkeler çerçevesinde değerlendirmeyi, görüş bildirmeyi, önerilen protokolleri incelemeyi, izin vermeyi, uygulamaların izlenmesini, deney hayvanları üzerinde yapılan bütün işlemlerin kayıt altına alınmalarını ve bu işlemlerin anında ya da geriye doğru izlenebilmelerini sağlayan kuruldur ⁽⁶⁾. Çevre ve Orman Bakanlığı tarafından 2007/11 sayılı genelge ile “Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programı”na dair genelge ⁽⁷⁾ yayımlanarak deney yapacak araştırmacıların alacakları sertifikalara yönelik eğitimler belli kurallar çerçevesine alınmıştır. Bu eğitim programında hangi konuların yer alması gerektiği ve hangi derslerin verileceği de bakanlıkça belirlenmiştir. Bu genelgeye göre hayvan bakıcıları ve diğer yardımcı personelin 31 saatlik teorik ve 49 saatlik pratik eğitim alma zorunluluğu, araştırmacılar, teknikerler ve teknisyenlerin ise 40 saat teorik ve 40 saat pratik olmak üzere 80 saatlik bir eğitim alma zorunluluğu getirilmiştir. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından ise 2011 yılında Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik ⁽⁸⁾ (Resmi Gazete 13.12.2011 tarih ve 28141 sayı) ile hayvan üretim yerlerine yönelik belli standartlar getirilerek denetim altına alınmıştır. Son olarak Orman ve Su İşleri Bakanlığı tarafından 2014 yılında Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik ⁽⁹⁾ yayımlanarak eski yönetmelik yürürlükten kaldırılmıştır. Bu yönetmelik ile deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, eğitim, öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili kabul edilebilir etik standartların belirlenmesi, hayvan deneyleri merkezi etik kurulu ve hayvan deneyleri yerel etik kurullarının kuruluş ve çalışmaları, yapılması planlanan işlemlerin sunulması, araştırma ve çalışma önerilerinin incelenmesi ve izin verilmesi, uygulamaların izlenmesi, deney hayvanları üzerinde yapılan bütün prosedürlerin kayıt altına alınmaları ve bu prosedürlerin anında ya da geriye doğru izlenebilmeleri, bütün işlemlerin denetlenebilirliğinin sağlanması ve ilgili işlemlerin gerektiğinde sonlandırılmalarına ilişkin esaslar belirlenmiştir. Yine bu yönetmelikte deney hayvanları ile ilgili yapılacak bütün işlemler-

rin bir proje kapsamında yapılması, uygun anestezi ve analjezi uygulaması, hayvan etik hakları, deney sürecinde uygulanması gereken etik ilkeler, deneyin sonlandırılmasına ilişkin hususlar, insancıl öldürülme yöntemleri, deney sonunda hayvanların akıbeti gibi konulara ayrıntılı olarak yer verilmiştir. Ülkemiz deney hayvanları üretimi, eğitimi ve deneyler konusunda son yıllarda gerçekten çok hızlı ve bilimsel bir gelişme kaydetmiştir. Hâlen 2015 yılı itibarıyla üniversite, eğitim ve araştırma hastaneleri, kamu kurumları ve özel sektör bünyesinde bakanlık tarafından çalışma izni verilen 108 adet HADYEK mevcuttur. Ayrıca deneysel ve diğer bilimsel amaçlar için kullanılan deney hayvanlarının yıllık istatistikleri de tutulmakta ve yayımlanmaktadır⁽¹⁰⁾. Deney hayvanı ile çalışma yapacak kişilerin öncelikle deney hayvanı kullanım sertifikasına sahip olmaları ve daha sonra da yapacakları deneye ait projeyi son genelge çerçevesinde hazırlayıp HADYEK'e sunmaları gerekmektedir. HADYEK bulunmayan kurumlarda yönetmeliğe göre deneysel çalışma yapmak ve deney hayvanları ünitesi kurmak olası değildir. Deneysel çalışma yapmak isteyen araştırmacı yaptığı projeyi herhangi bir HADYEK'e sunabilir ve gerekli izni aldıktan sonra o kurumda da çalışmasını yapabilir.

Deneyin Standartlaştırılması:

Hayvan deneylerinin standartlaşmasında amaç deneyde kullanılacak hayvanın cins, tür ve genetik olarak belli özellikte olması, çevre, beslenme ve barınma koşullarının ve uygulanan yöntemin aynı olması ve kontrol altına alınmasıdır. Deneysel çalışmalarda deney hayvanlarının genetik standardizasyonu çok önemlidir. Bunun için genetik yapısı belli inbred soylar genetik standardizasyon için kullanılması uygun soylardır. Inbred soy, bir anne-babadan doğan yavruların çiftleştirilerek yapılan üretim şeklidir. Bu yöntemle genetik heterojenite azaltılıp, homojenite sağlanmaya çalışılır. Genellikle 20. soydan sonra homojenite sağlanmaktadır. Outbred soyların günümüzde deneysel çalışmalarda kullanılması önerilmemektedir. Deneysel çalışmada kullanılacak hayvanların beslenme, barınma ve çevre ortamlarının standardize edilmesi (çevresel standardizasyon) gerekir. Ayrıca çalışmada kullanılacak hayvanların sağlıklı olması, bunun için de üniteye hayvanların randomize olarak belli periyodlarla sağlık kontrolünden geçirilmesi (viral, bakteriyolojik ve paraziter enfeksiyonlar yönünden)

gerekmektedir (mikrobiyolojik standardizasyon). Standardize bir deneyde aynı deney farklı ortamlarda benzer işlemler yapıldığında benzer sonuçların alınmasını gerektirir. Daha önce yapılan çalışmalardaki yöntem örnek alınarak yapılan diğer çalışmalarda sonuçların farklı çıkması deneyin standardize edilmesinden kaynaklanmaktadır. Özellikle ülkemizde geçmişte bu konularda sıkıntılar yaşanmış olmasına rağmen, son yıllarda yasa ve yönetmeliklerin uygulanması ve denetim mekanizmasının da işlemesiyle deney hayvanları üretim ve bakım ünitelerinde belli standartlar sağlamış ve yapılan deneyler ve sonuçları daha güvenilir olmuştur⁽¹¹⁻¹⁴⁾.

Deneyin Planlanması:

Deneysel çalışma yapacak bir araştırmacı öncelikle yapacağı çalışmanın özgün olup olmadığını, bilime ne ölçüde katkı sağlayacağını sorgulamalıdır. Üzülerek belirtmek isterim ki geçmişte yapılan birçok hayvan deneyinin bilime katkısı sorgulanabilir. Örneğin, iskemi/reperfüzyon konusunda binlerce deney yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresi'nde bir araştırmacı bu konuyu araştırmış ve iskemi/reperfüzyon konusunda Türk çocuk cerrahları tarafından Ulusal Kongre'de 10 yıllık süre içinde sunulan bildirilerin %5.9'unu iskemi/reperfüzyon üzerine olduğunu tespit etmiştir. Çalışılan doku olarak da özellikle bağırsak ve testis dokularıdır⁽¹⁵⁾. Bu çalışmaların sonucunda kliniğe yansıyan ve kanıtlanarak tedavi uygulamasına geçilen hiçbir madde yoktur. Bu durum da göstermektedir ki deneysel çalışma yapılırken yapılacak çalışmanın gerekliliği ve klinik uygulanabilirliği yine yine sorgulanmalıdır.

Avrupa Birliği bünyesinde olduğu gibi ülkemizdeki son yasa ve yönetmelikler deneysel çalışmalarda etik konusuna çok ciddi vurgu yapmaktadırlar. Hayvan deneyi yapacak bir araştırmacı öncelikle planlama safhasında 3R (replacement, reduction, refinement) kuramını bilmesi ve yapacağı deneyde bunu uygulaması gerekmektedir. Yönetmelik ve genelgelerde de bu konuya çok ciddi vurgu yapılmaktadır.

3R kuramında öncelikle yerine koyma (replacement) alternatifinin uygulanabilir olup olmadığının sorgulanması gerekmektedir. 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. Eğer yerine koyma olası değilse ve canlı hayvan kullanmak gerekiyorsa ikinci adım azaltma (reduction) konusunun sorgulanmasıdır. Planlama safhasında istatistiksel olarak gruplarda en az hayvan kullanma durumu belirlenmelidir. Denek sayısını gruplarda artış olarak belirleyip sonuçları istatistiksel olarak yorumlamak olasıdır. Hayvan refahı (refinement) konusundan amaç hayvanlara yapılacak işlemlerde ağrının minimal olması, eziyet ve sıkıntının en düşük düzeyde tutulmasıdır. Esas olan hayvanların doğal ortamda bulunacakları şartlara azami uyumun sağlanmasıdır. Ağrılı işlemler yapılacaksa analjezi ve anestezi uygulamaları ayrıntılı biçimde belirtilmelidir. Deney tamamlandığında hayvanlar en insancıl yöntemle öldürülmelidir ⁽¹⁶⁻²⁰⁾. Yine 271 hayvan deneyini içeren bir literatür taramasında çalışmaların %87'sinin randomize olmadığı ve %86 çalışmada ise kör gözlem yapılmadığı tespit edilmiş ve genel olarak da 3R kuralına uyumun zayıf olduğu tespit edilmiştir ⁽²¹⁾.

Kontrol grubu kullanmanın amacı deney esnasında bilinmeyen ya da kontrol edilemeyen değişkenlerin etkisini ve rastlantı olasılığını ortadan kaldırmaktır. Kontrol grubu bağımlı değişken haricinde diğer tüm değişkenler tarafından deney grubu ile aynı olmalıdır. Eğer deney bir cerrahi müdahalenin etkisini araştırmak üzere planlanmış ise kontrol grubuna aynı anestezi ve laparotomi uygulanmalıdır. Bu durumda kontrol grubu "sham" olarak tanımlanır. Tek bir grup hem kontrol hem de deney grubu olarak tanımlanabilir ve her hayvanın cerrahi öncesi değerleri kontrol olarak alınır.

Araştırma projesinde yöntem bütün ayrıntıları ile belirtilmelidir. Araştırmada kullanılacak model hayvanın tür ve soyu, hayvanların kaynağı, ağrılı işlemlerde kullanılacak analjezi, anestezi uygulaması, cerrahi öncesi ve sonrası bakım ve barınma koşulları ayrıntılı olarak projede belirtilmelidir. Gruplar ve her grupta kullanılacak hayvan sayısı (en fazla 8), eğer yeni bir yöntem deneniyorsa pilot çalışmada kullanılacak hayvan sayısı (en fazla 3), uygulanacak istatistiksel yöntem, deney sonunda hayvanların öldürülme yöntemi ya da yine kullanılacaksa prosedür ayrıntılı olarak projede belirtmelidir. Hakemler tarafından projenin kabulü ve çalışmanın yapılabilmesi için yöntemde bütün ayrıntılar yazılmalı ve sorulacak herhangi bir kapalı konu bırakılmamalıdır ⁽²²⁻²⁵⁾.

Deneyin yürütülmesi: Deneysel çalışma yapmanın ön koşulu gerekli eğitimi almış olmaktır. Bu konu yukarıda da belirttiğimiz gibi Çevre ve Orman Bakanlığı tarafından 2007/11 sayılı genelge ile zorunlu tutulmuştur. Araştırmacının alacağı 80 saatlik eğitimde hem teorik hem de pratik olarak hayvan anatomi ve fizyolojisi, anestezi ve analjezi uygulamaları, tutuş teknikleri, ilaç uygulama yöntemleri, kan alma ve gavaj gibi hayvanlarla yapılacak deneylerde gerekli olacak temel bilgiler verilmektedir. Araştırmacı hangi hayvanda çalışacaksa o hayvana özgü anatomi, fizyoloji ve temel parametreler hakkında yeterli bilgiye sahip olmalıdır. Eğer yöntemde cerrahi bir işlem varsa insanda geçerli asepsi ve antisepsi ve cerrahi kurallar deney havanlarındaki cerrahi uygulamalar için de geçerlidir ve araştırmacı bu hususta gerekli özene göstermelidir. Deneysel çalışmalarda ne ölçüde bu kurallara riayet edilirse, deneyin sonuçları da o derece güvenilir ve doğru olacaktır. Hayvanın cerrahi süresince ve sonrasında vital fonksiyonları monitörize edilmeli, hipotermi oluşmaması için gerekli önlemler alınmalıdır. Hipovolemi açısından da dikkatli olunmalı ve sıvı-elektrolit dengesinin bozulmaması açısından gerekli önlemler alınmalıdır. Dokuların nazik tutulması, kanamanın minimal olmasına özen gösterilmesi, uygun cerrahi teknik ve sütür materyali kullanılması ile inflamatuvar yanıtın en düşük düzeye indirgenmesi sağlanmalıdır. İşlem sonrası bakımın çok iyi koşullarda yapılması ve hayvanların rahat bir uyanma dönemi geçirmeleri sağlanmalıdır. Uzun süren cerrahi işlemlerde antibiyotik profilaksisi ya da tedavi protokolü gerekebilmektedir. İşlem sonunda eğer hayvanların yaşamı sonlandırılacaksa ağrısız ve stressiz bir ötonazi uygulanmalıdır. Deney süresinde de gerekli durumlarda ötonazi düşünülmelidir. Deneyle ilgili bütün veriler kaydedilmeli ve korunmalıdır. Bütün laboratuvarlarda hazır formlar her bir hayvan için düzenlenmeli ve o hayvan için yapılan işlemler günlük olarak o formlara kaydedilmelidir. İşlem süresince olabilecek denetimlerde ya da daha sonraki gereken durumlarda bu belgelerin gösterme edilme zorunluluğu vardır ⁽²²⁻²⁵⁾.

Sonuç

Deney hayvanları bakım, üretim ve kullanımı konularında ülkemizde son yıllarda yapılan yasal düzenlemelere paralel olarak çok olumlu gelişmeler kaydedilmiştir. Bu gelişmelerden en önemlilerinden birisi

de eğitim zorunluluğudur. Bunun için deneysel çalışma yapacak araştırmacının öncelikle zorunlu olan eğitim almış olması, yapacağı çalışmanın bilime ne düzeyde katkı sağlayacağını iyice sorgulaması, hayvan deneyi yapmadan önce alternatif yöntemleri gözden geçirmesi, deneyin bütün safhalarında etik kurallara uyması gerekmektedir. Araştırma multidisipliner bir işlem olduğu için proje yürütücüsü esas sorumlu kişidir ve araştırmayı çok iyi bir şekilde yönetmelidir. Yapılan çalışma bilimsel bir ürüne dönüştürülmeli ve yayımlanmalıdır. Bilindiği gibi yayımlanmamış çalışmanın hiçbir değeri yoktur ve yayımlanmadığı sürece yapılmamış olarak kabul edilir.

Kaynaklar

1. Wolfensohn S, Lloyd M. Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare, Second ed. London, UK, Blackwell Science Ltd. 1998, pp:10-34.
2. Franco NH. Animal experiments in biomedical research: a historical perspective. *Animals* 2013;3:238-273. <http://dx.doi.org/10.3390/ani3010238>
3. Legislation for the protection of animals used for scientific purposes. ec.europa.eu/environment/.../legislation_en.htm
4. Hayvanları Koruma Kanunu. <https://www.tbmm.gov.tr/kanunlar/k5199.html>
5. Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Deneysel Hayvanlarının Korunması, Deneysel Hayvanlarının Üretim Yerleri ile Deneysel Yapacak Olan Laboratuvarların Kuruluş, Çalışma, Denetleme, Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik. KKGGM, 25.04.2006, sayı:24.
6. Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik. Resmi Gazete. 06.07.2006, sayı: 26220.
7. Çevre ve Orman Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü, Deneysel Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programına Dair Genelge, (2007/11).
8. Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik. Resmi Gazete. 13.12.2011, sayı: 28141.
9. Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik. Resmi Gazete. 14.02.2014, sayı: 28914.
10. T.C.Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü. http://www.milliparklar.gov.tr/AnaSayfa/yabanHayatiDairesi/yh_belgeler.aspx?sflang=tr
11. Beynen AC, Gartner K, Van Zutphen LFM. Hayvan Deneylerinin Standartlaştırılması. Çev. Güneren G, İde T. Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri. Medipres, 2003, Ankara, s:101-108.
12. Beynen AC, Coates M, Meijer JC. Deneysel Hayvanların Beslenmesinin Deneysel Bulgulara Etkisi. Çev. Güneren G, İde T. Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri. Medipres, 2003; Ankara, s:109-126.
13. Van Zutphen LFM, Hedrich HJ, Van Oortmerssen GA, Prins JB. Genetik Standartlaştırma. Çev. Şeviktürk M, Güneren G. Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri. Medipres, 2003; Ankara, s:127-144.
14. Boot R, Kopman JP, Kunstyr J. Laboratuvar Hayvanlarının Mikrobiyolojik Konularının Standartlaştırılması. Çev. Pekcan M. Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri. Medipres, 2003; Ankara, s:145-166.
15. Abeş M, Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresinden İskemi-Reperfüzyon hasarlanmasına Genel Bir Bakış. XXVII. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresinde Sunulmuştur. Malatya, 30 Eylül-03 Ekim 2009.
16. The Three Rs: developments in laboratory animal science. *Laboratory Animals* 1994;28:193-231.
17. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123). Working Party for the Preparation of the Multilateral Consultation of Parties to the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes. ec.europa.eu/environment/.../legislation_en.htm
18. Barnett SW. Introduction to Animal Technology. Second Edition. Blackwell Science, Ltd, 2001; pp:70-77.
19. Pain and Distress in Laboratory Rodents and Logomorphs. Report of the FELASA Working Group on Pain and Distress. *Laboratory Animals* 1994;28:97-112.
20. Refining Rodent Husbandry. Report of the Rodent Refinement Working Party. *Laboratory Animals* 1998;32:233-259. <http://dx.doi.org/10.1258/002367798780559301>
21. Freshwater MF. Laboratory animal research published in plastic surgery journals in 2014 has extensive waste: a systematic review. *J Plast Rec Aesthet Surg* 2015;68:1485-1490. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjps.2015.06.012>
22. Yılmaz R. Hayvan Etik Hakları ve Etik Kurallar. Cantürk NZ, Sayek İ. Cerrahi Araştırma. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2005; s:131-141.
23. Sayek İ, Ağalar F. Cerrahide Araştırma Planlaması. Cantürk NZ, Sayek İ. Cerrahi Araştırma. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2005; s:11-19.
24. Okur H. Deneysel Araştırmanın Önemi, Planlanması, Yürütülmesi ve Etik Konular. Çakmak M, Karagüzel G, Soyer T, et al. Çocuk Cerrahisinde Deneysel Araştırmalar. Türkiye Çocuk Cerrahisi Derneği, Ankara, 2009; s:3-16.
25. Cantürk NZ, Dülger M. Deneysel Araştırmada Standartlar. Cantürk NZ, Sayek İ. Cerrahi Araştırma. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2005; s:117-123.