



Klinik Öncesi Çalışmalarda Genel Kavramlar ve Akış

General Concepts and Outline in Preclinical Studies

İD Funda Üstün

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

Öz

Klinik öncesi çalışmalar bilimsel projelerde ve klinik çalışmalara geçişte önemli role sahiptir. Bu çalışmalarda iyi bir hipotez kurmak, kapsamlı literatür taraması ile çalışmanın şeklini vermek, deneydeki hayvan sayısını belirlemek ve sonuçları yorumlamada istatistikçi desteği almak ve tüm bunları etik çerçevede yürütmek önem taşır. Uygun kontrol gruplarının seçimi ve pilot çalışmaların kullanımı önemlidir. Bu çalışmaların tasarım ve yürütülmesindeki plansız ve hatalı uygulamalar sadece çalışmanın klinik uygulamaya geçişini engellemekle kalmaz, aynı zamanda araştırma kaynaklarının israfına da yol açar. Bu derlemede deneysel tasarımlar hakkında genel bilgiler verilecek ve klinik öncesi çalışmaların planlama aşamalarına genel bakış sunulacaktır.

Anahtar Kelimeler: Klinik öncesi çalışma, araştırma tasarımı, hayvan deneyleri, deneysel tasarım

Abstract

Preclinical studies play a crucial role in scientific projects and the transition to clinical trials. These studies require formulating a sound hypothesis, conducting a comprehensive literature review to define the study design, determining the number of animals in the experiment, obtaining statistical support for interpreting results, and conducting all of these processes within an ethical framework. The selection of appropriate control groups and the use of pilot studies are also important. Unplanned and flawed practices in the design and execution of these studies not only hinder the transition to clinical application but also lead to a waste of research resources. This review will provide general information about experimental designs and offer an overview of the planning stages of preclinical studies.

Keywords: Preclinical study, research design, animal experiments, experimental design

Giriş

Klinik öncesi çalışmalar; hastalıkların patofizyolojisini ve tedavisini çözmeye yardımcı olarak klinik çalışmalara köprü kuran, aynı zamanda ilaç ve tıbbi cihaz geliştirme çalışmalarıdır. Bu çalışmalar, deneyin amacına ve hedefine bağlı olarak iki kategoriye ayrılabilir. Hipotez üreten (keşifsel) çalışmalar hastalığın patofizyolojisiyle ilgili ve potansiyel ilaç hedefleri ile ilgili test edilebilir teoriler üretmeyi, hipotez test eden (doğrulamalı) çalışmalar ise keşifsel bulguları ilgili hayvan modellerinde yeniden üretmeyi amaçlar. Aynı çalışmalar içinde her iki bileşen de olabilir.

Klinik öncesi çalışmada öncelikle deney hayvanı kullanımının gerekliliği gözden geçirilmelidir. Bu deneyler titizlikle tasarlanmalı, yürütülmeli, analiz edilmeli ve raporlanmalıdır. İyi planlanmış bir çalışma hem etik hem de bilimsel açıdan önem taşır. Doğru planlama çalışmanın tekrarlanabilirliğini artırır. Deneylere başlamadan önce istatistiksel analiz planını da içeren net protokoller hazırlanmalıdır. Yapılan yanlış istatistik ve süreçler yanlış sonuçlar ile yayın yanlışlığına neden olabilir. Tüm tanımlanan bu ön hazırlıklara uyulmaması, yanlış süreç (homojen olmayan olgu grubu kullanımı, ön çalışma yapmama gibi) ve istatistik uygulanmasına bağlı hatalı sonuçlara ait örnekler Festing'in (1) makalesinde ayrıntılı vurgulanmıştır.

Sorumlu Yazar/Corresponding Author

Prof. Dr. Funda Üstün, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

E-posta: seytifunda@yahoo.com ORCID ID: orcid.org/0000-0002-3250-1032

Geliş Tarihi/Received: 01.06.2026 Kabul Tarihi/Accepted: 03.07.2026 Yayınlanma Tarihi/Publication Date: 23.07.2026

Cite this article as/Atf: Üstün F. General concepts and outline in preclinical studies. Nucl Med Semin. 2026;12:96-104



Copyright © 2026 Yazar(lar). Türkiye Nükleer Tıp Derneği adına Galenos Yayınevi tarafından yayımlanmıştır. Creative Commons Atıf-GayriTicari 4.0 Uluslararası (CC BY-NC 4.0) Uluslararası Lisansı ile lisanslanmış, açık erişimli bir makaledir.

Copyright © 2026 The Author(s). Published by Galenos Publishing House on behalf of Turkish Society of Nuclear Medicine. This is an open access article under the Creative Commons AttributionNonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0) License.

Türkiye’de klinik öncesi çalışmalarda deney hayvanlarının kullanımı yasal düzenlemelere tabidir. Bu kurallar çalışmalarda öncelikle hayvan refahını ve etik kuralları temel almaktadır. Deney hayvanı çalışmalarındaki temel kanunlar ve yönetmelikler:

- **5199 Sayılı Hayvanları Koruma Kanunu (1 Temmuz 2004, sayı: 25509)**

Hayvanların korunması, acı ve eziyet çekmelerinin önlenmesi amacıyla deneylerin nasıl yapılması gerektiğini düzenleyen ana kanundur (2).

- **Deneyssel ve Diğer Bilimsel Amaçlar için Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik (13 Aralık 2011, sayı: 28141)**

Deney hayvanlarının üretimi, bakımı, barınması ve deneylerde kullanımı ile ilgili detaylı şartları içerir (3).

- **Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik (15 Şubat 2014, sayı: 28914)**

Çalışmaların etik kurallara uygunluğunu denetleyen Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu (HADMEK) etik kurulların çalışma prensiplerini belirler (4).

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programına dair genelge (02.04.2019) ile HADYEK’ler tarafından düzenlenecek Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programındaki dersler ve eğitim hedefleri yayınlanmıştır (5).

Türkiye’deki yasal mevzuat, uluslararası kabul görmüş olan 3R kuralına dayanmaktadır (6):

Replacement (yerine koyma): Hayvan deneyleri yerine, hayvan kullanılmayan alternatif yöntemlerin (hücre kültürü, bilgisayar modellemesi gibi) tercih edilmesi.

Reduction (azaltma): Bilimsel sonuç için gereken minimum hayvan sayısının kullanılması.

Refinement (iyileştirme): Hayvanların acı, ağrı ve stresini minimuma indirecek, yaşam koşullarını en iyi hale getirecek yöntemlerin kullanılması.

Bu kanun ve kurallar çerçevesinde klinik öncesi çalışma planlarken; deney yapılmadan önce mutlaka kurumsal bir etik kuruldan (HADYEK) onay alınmalıdır. Deneylerde görev alacak araştırmacıların, onaylı bir eğitim programından geçerek “Deney Hayvanı Kullanım Sertifikası” almaları zorunludur. Yasal izinler olmadan, sertifikasız personel ile ve 3R kurallarına uymadan deney hayvanı kullanmak suçtur.

Bu derlemede klinik öncesi çalışmaların tasarımıyla ilgili genel kavram ve prensipleri açıklayacağız, klinik öncesi çalışmaların tasarımında yer alan adımları ve kavramları tanımlayıp, bu süreçte dikkate alınması gereken konulara genel bakış sunacağız. Bu bölüm aynı zamanda bu sayıda yer alan diğer yazılara da ön bilgi olup; klinik öncesi çalışmaları tasarlamanızda yol gösterici olacaktır.

Klinik Öncesi Çalışma Nasıl Planlanır?

Çalışmayı planlamada yer alan tüm aşamaların doğru planlanması ve tasarımı, bilimsel olarak geçerli ve tekrarlanabilir veriler üretecek bir deney tasarlamak için kritik öneme sahiptir. İş akışını en baştan belirlemek, bunun için bir akış şeması çizmek ve kontrol listesi oluşturmak, oluşabilecek olumsuzluklara karşı çözüm planları en baştan belirlemek süreci kolaylaştıracaktır.

Literatür Taraması

Deneyssel tasarım aşaması için gerekli olan tüm bilgileri irdelemek için çok kapsamlı bir literatür taraması yapılması en önemli ilk aşamadır ve bu konuda deneyimli kişiler ile süreç tartışılmalıdır.

Literatür taramasının amacı ilgili çalışmaları ve yöntemleri öğrenmek, uygun hayvan modellerini belirlemek, hayvanların kullanımı yerine alternatif yöntemlerin varlığını sorgulamak ve gereksiz araştırma tekrarlarını ortadan kaldırmaktır. Ayrıca önerilen yaklaşımın bilimsel amaca uygun olup olmadığını ve modelin belirtilen hedeflere gerçekten ulaşım sağlayacağına dair de yol gösterecektir.

Hipotez Kurma

Araştırmacı çalışmada cevaplanacak sorunun ne olduğunu belirtmelidir. Esas sorunu ortaya koyan ve araştıran temel bir hipotez ile alternatif hipotez/hipotezleri ortaya koymak uygun olacaktır.

Bazı durumlarda iki hipotez öne sürülebilir: sıfır hipotezi ve alternatif hipotez (7). Alternatif hipotez, deneyssel manipülasyonun ölçülen yanıt üzerinde bir etkisi olduğu varsayımını, sıfır hipotezi ise hiçbir değişiklik veya hiçbir etki olmadığını ifade eder. Bunu bir örnek ile açıklayalım:

- **Sorun:** Egzersiz esnasında hangi diyet sıçanlarda kas dokusunu korur: A diyeti mi yoksa B diyeti mi?
- **Sıfır hipotezi:** Grupların aynı sonucu göstermesi beklenir (A diyetiyle beslenen sıçanlar, B diyetiyle beslenen sıçanlarla aynı miktarda kilo alacaktır).
- **Alternatif hipotez:** Deneysel grupların farklı sonuçlar göstermesi beklenir (sıçanlar A diyetiyle B diyetine göre daha fazla kilo alacaktır veya tam tersi).
- **Test edilemeyen hipotez:** Bir sonuç kolayca tanımlanamaz veya yorumlanamaz (A diyetiyle beslenen sıçanlar, B diyetiyle beslenen sıçanlardan daha iyi görünecektir). “Daha iyi” ne anlama gelir? Test edilebilir bir hipotez oluşturmak için tanım açıkça belirtilmelidir. Net olmayan ifadelerden kaçınılmalıdır.

Çalışmada Kimler Yer Almalı?

Çalışmada yer alan kişilerin mutlaka deney hayvanı kullanım sertifikasına sahip olması gereklidir. Projede yer alan tüm personel, bu proje için uygulayacakları yöntemler konusunda nitelikli ve eğitilmiş olmalıdır. Proje planlanırken hangi uzmanlık alanlarının gerekli olduğu gözden geçirilmeli ve bu branşlar ile iletişime geçilmeli, çalışmada ne derecede yer alacakları, görev ve sorumlulukları başlangıçtan itibaren konuşulmalıdır.

Deney Hayvanı Seçimi ve Deneysel Modeli Belirleme

Hayvan deneyleri tasarımındaki en kritik adım sorulan deneysel soruyu ele almak için en uygun hayvan modelinin belirlenmesidir (8).

Bir hayvan modeli, “etioloji, patofizyoloji, semptomatoloji ve terapötik müdahalelere yanıt açısından insan durumuna benziyorsa” geçerli olarak tanımlanır (9). Genellikle, bu genel geçerlilik üç açıdan ele alınır: öngörücü geçerlilik (testteki performans, modellenen koşuldaki performansı öngörür), yüz geçerliliği (modellenen koşulla fenomenolojik benzerlik) ve yapısal geçerlilik (modelin sağlam bir teorik gerekçesi vardır).

En uygun modeli seçerken şu özellikler dikkate alınmalıdır:

- (1) Canlıların evrimsel süreçteki yerini ve karmaşıklık düzeyini göz önüne alarak öncelikle gelişimdeki en düşük seviyedeki hayvanın kullanımı tercih edilmelidir.

- (2) Çalışmadaki tür ve/veya suş olarak özgün özelliklere sahip hayvanlar kullanılmalıdır. Bir tür içinde kritik olabilecek suş veya ırk farklılıklarının olduğunu hatırlamak önemlidir. Hem tür hem de suş, bilimsel geçerlilik için karşılaştırılabilir olmalıdır.
- (3) Deneysel modeli belirlemede birden fazla seçenek varlığında her birinin avantajları ve sınırlamaları göz önünde bulundurulmalıdır (8). Sonuçların insanlara genelleştirilmesi gerektiğinde tür seçimi kritik olabilir. Benzer genetik yatkınlıklara veya metabolik yollara sahip veya insanlara benzer patoloji gösteren hayvan türlerinin daha iyi modeller olma olasılığı yüksektir.
- (4) Deney süresi boyunca hayvan modelinin edinilmesi ve bakımıyla ilgili maliyetler göz önünde bulundurulmalıdır.
- (5) Kapsamlı bir literatür taraması sonrası seçilen model bu konuda deneyimli meslektaşlarınız ile tartışılmalıdır.
- (6) Hayvan modelini edinmek için ticari satıcılar veya devlet destekli hayvan model depoları ile görüşülmelidir.
- (7) Çalışmada istenmeyen değişkenlerin etkisini en aza indirmek için standardizasyon kullanılmalıdır (10). Hayvanları (örneğin, tek cinsiyetli akraba çiftleşmesinden doğan hayvanlar), çevreyi (örneğin, standart barınma ve bakım koşulları), test prosedürünü ve zamanı (örneğin, deneyi aynı anda tek bir grupta yürütmek) standartlaştırmalıdır. Bu durum kullanılan hayvan sayısının da azaltılmasına katkıda bulunur.
- (8) Deney hayvan modelini belirlerken değerlendirme ve girişimlerde uygun zaman noktalarını belirlemek için modelde hastalığın ilerleme süreci ile modelde yer alacak personel ve deneylerin gerçekleştirilmesiyle ilgili tüm maliyetler dikkate alınmalıdır.
- (9) Hayvanlara kimyasal veya biyolojik tedaviler uygulanacaksa, uygun uygulama yöntemi belirlenmelidir (enjeksiyon yolu veya gavaj gibi).
- (10) Hayvan modelinin nihai olarak belirlenmesinden önce beraber çalışacağınız deney hayvanları laboratuvarının veteriner hekimine danışılmalıdır. Çalışmanın süreci açısından bu hayvanın uygunluğu, çalışmada kullanacağınız hayvan için uygun koşullar olup olmadığı konuşulmalıdır. Deneysel modeli oluşturmak için yerel olarak yeterli tesislerin mevcudiyeti araştırılmalıdır.

Örnek: A hastalığının tedavisi için yeni geliştirilen bir antibiyotik molekülün etkinliğini statik böbrek sintigrafisi, böbrek ultrasonografisi ve biyokimyasal parametreler ile değerlendireceğimiz çalışmada öncelikle tercih edeceğimiz hayvan ve koşullar değerlendirilmelidir. Kritik nokta görüntüleme yapılacak cihazlar için sistem rezolüsyonu nedeni ile hayvan boyutu olacaktır. Deney hayvanı için uygun sistem yokluğunda insan sistemleri ile görüntülenebilen tavşan ya da hamster düşünülebilir. Görüntülemeye kullanılacak cihazların uygunluğu ilgili klinikler ile ayrıntılı tartışılmalıdır. Soracağınız bazı sorular şunlardır:

- Deneyde kullanılması planlanan hayvanlar A modeli için uygun mudur?
- Beraber çalışacağın laboratuvarında bu hayvan var mı yoksa alınması mı gerekli? (+ maliyet)
- Özel barınma koşulları gerektiriyor mu? Bu koşullar laboratuvarında var mı? Yoksa oluşturulabilecek mi? (özel kafes sistemleri gibi) (+ maliyet)
- Deneyssel model oluşturulduğunda birden fazla hayvan ayrı kafeste mi tutulmalı? Bu uygun mu?
- Model ne kadar zamanda oluşuyor? Bu model hayvanın deneyde değerlendirilecek parametrelerine olumsuz etkili mi?
- Modeli doğru ve hassas bir şekilde oluşturmak için gerekli uzmanlık mevcut mu? Personel hayvanın daha sonra ve yaşamı boyunca bakımını üstlenebilecek durumda mı?

Küçük deney hayvanı görüntüleme sistemi bulunan laboratuvar ile iletişime geçerek süreci tartışmanız gerekmektedir. Süreçte kendi laboratuvarınızda modeli üretilip görüntülemeleri ilgili laboratuvarında yürütebileceğiniz gibi (ancak bu koşulda hayvan transferi ile ilgili yasal süreçleri uygulamanız gereklidir) tüm süreci orada da yürütebilirsiniz.

Diğer kritik nokta biyokimyasal analizdir. Ne zaman ve kaç kez biyokimyasal parametre ölçülecektir ve hayvanlar için kullanılan biyokimyasal kitler farklıdır, bunlar alınabilecek mi? (+ maliyet) Ülkemizde bu kitler mevcut mu? Bu hayvanlar ardışık kan alımına uygun mu? Bu durum onlarda stres oluşturup sonucu etkileyecek mi? Asgari kaç mL kan gereklidir ve her seferinde hayvandan asgari kaç mL kan alınabilir?

Deney Hayvanı Sayısını Belirleme

Hesaplamanın nasıl yapılacağına dair ayrıntılı yayınlar mevcuttur (11).

“3R” hayvan sayısının azaltılması (*reduction*), yöntemlerin iyileştirilmesi (*refinement*) ve hayvan dışı alternatiflerle değiştirilmesi (*replacement*) bu aşamada dikkate alınmalıdır (6).

Etik kurul izninde mutlak deney hayvan sayısı belirtilmelidir. Ayrıca hayvanların çalışmaya dahil edilme ve hariç tutulma kriterleri de belirtilmelidir.

Doğru sayıda hayvan/deney birimi seçmek önemlidir. Pilot çalışma ne kadar hayvan kullanılacağını tahminde yardımcı olabilir. Deneyleri daha iyi planlayarak araştırmalarda kullanılan hayvan sayısını azaltmak mümkündür. Bazı deneyler yalnızca küçük varyasyonlarla tekrar tekrar yapılır ve tasarımda çok küçük iyileştirmeler bile zaman içinde önemli hayvan tasarrufu sağlar. Çok az hayvan seçmek, biyolojik olarak önemli etkilerin gözden kaçmasına neden olabilir, çok fazla hayvan seçmek ise hayvanların israfına yol açacaktır. Deneyler ve ilgili teknikler belirli bir sonucu elde etme amacıyla en az sayıda hayvanı kullanacak şekilde optimize edilirse, hayvan kullanımında önemli bir azalma ve bilimsel kaynaklarda önemli tasarruf sağlanacaktır.

İncelenecek faktörler (12);

- Doğrudan hayvan ile ilgili özellikler (örneğin, cinsiyet, ırk, yaş, beslenme ve sağlık durumu) (araştırmacının kontrol edebileceği değişkenler),
- Çevresel faktörler (örneğin, kafes ve grup büyüklüğü, altlık malzemesi) (araştırmacının kontrol edebileceği değişkenler),
- Protokole özgü faktör (örneğin, hayvan modelinin hazırlama yöntemleri, doz seviyesi, test bileşiklerinin uygulama zamanı, uygulama yolu ve yöntem, gözlem yöntemleri ve zamanı),
- Ek değişkenler (örneğin, hayvanlar arasındaki farklılıklar gibi kontrol edilmesi zor veya imkansız olan değişkenler),
- Sonuç ölçümünü etkileyebilecek ancak araştırmacı için doğrudan ilgi çekici olmayan istenmeyen değişkenler (örneğin, deneyin günü, hayvanların farklı günlerde kullanılması veya temel vücut ağırlığı veya lokomotor aktivite gibi) (13). Her deneyde istenmeyen değişkenler bulunur. Bunları protokol aşamasında belirlemek önemlidir.

Bir araştırmacının ölçebileceği üç tür değişken vardır (14):

- (1) İkili değişken, genellikle bir evet/hayır sonucunun oranı veya yüzdesi olarak ifade edilir, örneğin hastalık oluşumu veya belirli bir zamanda hayatta kalma;
- (2) Sürekli değişken, örneğin vücut sıvısındaki bir maddenin konsantrasyonu veya kan akış hızı veya idrar çıkışı gibi fizyolojik bir fonksiyon;
- (3) Bir olayın meydana gelme süresi, örneğin hastalığın veya ölümün ortaya çıkması.

Canlı deneylerden elde edilen verileri analiz etmenin birçok yolu vardır; analiz planını oluşturmanın ilk adımı, bağımsız değişkenleri belirlemektir (13). Bağımsız değişkenler iki tür olabilir:

(i) Araştırmacının hipotezini test etmek için özellikle manipüle ettiği değişkenler (örneğin, farklı dozlarda ilaç uygulaması),

(ii) Sonuç ölçümünü etkileyebilecek ancak araştırmacı için doğrudan ilgi çekici olmayan diğer değişkenler (örneğin, hayvanların farklı günlerde kullanılması).

Bu değişkenlerle başa çıkmak için çeşitli yöntemler mevcuttur. Basitçe bağımsız değişken sayısına göre denek sayısını hesaplamaya ait yöntemler mevcuttur (11). Gözlemlerin yapılmasında karmaşık protokoller söz konusu olduğunda değişkenliği etkileyen birçok faktör ortaya çıkar. İncelenen/araştırılacak faktör sayısı arttığı zaman farklı yaklaşımlar ile denek sayısını azaltmak amacı ile faktöriyel tasarımlar belirlenir (11).

Örneklem büyüklüğü, grup başına deney birimi sayısıdır. Deney birimi, diğer tüm birimlerden bağımsız olarak bir müdahaleye tabi tutulan varlıktır (7). Deney birimleri belirlendikten sonra, istenilen örneklem büyüklüğü farklı karşılaştırma gruplarına ayrılır.

Örnek: A tedavisi IV enjeksiyon ile farelere uygulanırsa, deney birimi hayvandır. Grup başına deney birimi sayısı ve grup başına hayvan sayısı aynıdır. Ancak bir kafes içindeki fareler arasında herhangi bir kontaminasyon varsa (örneğin, kullanılan ilaç idrar yolu ile atılıyorsa), bir fareye verilen tedavi o kafesteki diğer fareleri etkileyebilir ve bir kafesteki tüm fareleri aynı tedaviye tabi tutmak ve kafesi deney birimi olarak ele almak daha uygun olur.

Örnek 2: Eğer tedavi bir balık tankındaki suya eklenirse, aynı tanktaki iki balık farklı tedaviler alamaz; bu nedenle deney birimi tanktır ve örneklem büyüklüğü grup başına tank sayısıdır (7).

Deney hayvanı modellerinin sayısını belirlemede ayrıntılı bilgiler istatistik kitaplarında, istatistiksel analizler için kullanılan çeşitli bilgisayar programlarının kılavuzlarında ve istatistik üzerine temel düzeyde dersler sunan web sitelerinde ve çeşitli literatürlerde bulunabilir (14). Deney hayvanı sayısı belirleme çalışmanın en kritik ve geri dönüşümü olmayan aşaması olduğundan istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde etmek ve uygun deneysel tasarımın sağlanması amacıyla çalışmanın başında mutlak bir istatistikçiye danışmanızı öneririz.

Pilot Çalışma

Ana çalışmadan önce ön veriler üretmek ve/veya yöntemi ve teknikleri sağlamlaştırmak ve eksiksiz olmasını sağlamak için az sayıda hayvan kullanılarak yapılan çalışmalardır. Özellikle yeni prosedürlerde veya yeni bileşikler test edilirken bu çalışmalar kullanılır. Bu çalışmalar, değişkenler hakkında fikir vermek ve asıl çalışma sırasında karşılaşılabilecek olası sorunları belirlemek için de yararlıdır (8). Bazen orijinal tasarım, pilot çalışma sırasında edinilen sonuçlar nedeniyle değiştirilir (15). Ayrıca deneyin büyüklüğü, yani gerekli olabilecek hayvan sayısı hakkında fikir verir ve hesaplamaya olanak tanır. Pilot çalışmalarda hayvanların verileri ana çalışmada da kullanılabileceğinden, hayvan israfı anlamına gelmez. Pozitif ve negatif kontrolleri belirlemede çok faydalıdır.

Örnek: A maddesinin X tümörünün gelişimini hızlandırdığı hipotezi olan çalışmada farede öncelikle X tümör modelini oluşturmalıyız. Tümör modeli gelişimi görsel takip mi edilecek? O halde cilt altına enjeksiyon yapılmalı. Ne zaman tümörün oluştuğu (Kaç gün? İki katına çıkma süresi?) takip edilmeli ki A maddesinin tümör gelişimine etkisi için ne zaman uygulamaya başlanacağı planlanmalı. Bu sürecin hepsi pilot çalışmayı içerir.

Deney bir maddenin veya belirli bir hücrenin veya dokunun fizyolojik bir tepki üzerindeki etkisini belirlemek için yapılacaksa, öncelikle bu tepkinin gerçekten meydana geldiğini gösteren bir pilot çalışma yapılmalıdır. Bilinen durumlarda ise (örneğin pankreatektomiye bağlı diabetes mellitus gelişimi gibi) pilot çalışma gerekmez.

Örnek: C maddesi böbrek fonksiyonlarını azaltır hipotezi varsa; ilk aşamada pilot çalışma olarak C maddesinin farklı dozlarda uygulandığında böbrek fonksiyonunu azalttığı gösterilmelidir. Hangi doz ve sürede olduğu teyit edilir. Bu aşamadan sonra ana çalışmaya geçilir; C maddesini X doz ve Y sürede kullanan sıçanlarda B, D ve K maddelerinin bu etkiyi önlemedeki etkileri değerlendirilir.

Pilot çalışmanın bir diğer önemli olduğu durum da hayvanlara acı ve ızdırap süreçlerinin aşamalı olarak uygulanmasıdır (8). Motive edici ya da negatif uygulamalar önce düşük seviyeden başlanarak artırılmalıdır. Örneğin, çalışmanın fizyolojik kapsamını etkilemeyecek açlık ile motivasyon süresi gibi. Buna diğer örnekler; bir hayvanın yaşam kalitesi için önemli olan çift organlardan yalnızca birinin kullanımını etkilemek (örneğin, kırık/artrit veya kas-iskelet araştırmalarında bacaklar; gözler ve kulaklar gibi duyu organlarından biri); hayvanın kendi böbreklerini çıkarmak yerine kasık bölgesine üçüncü bir böbrek nakletmek, tüm bacağı yüksek sinir kesimiyle etkisiz hale getirmek yerine, bacağın distal kısmındaki sadece bir kası etkileyecek düşük bir sinir kesimi yapılması gibi.

Kontrol Grubu

Genetik ve çevresel faktörler gibi pek çok değişken hayvanlarla yapılan çalışmaların sonucunu potansiyel olarak etkileyebilir. Bu nedenle bu dışsal değişkenlerin etkisini en aza indirmek veya istenmeyen değişkenlerin olası varlığını tespit etmek için kontrol grubu hayvan kullanımı çok önemlidir. Çalışmalarda kullanılacak kontrol grupları şöyle sınıflandırılabilir (15,16):

1. **Pozitif kontrol:** Deneyel gruplar arasındaki şiddet farkını ölçmek için standart görevi görür. Ayrıca bir yanıtın tespit edilebileceğini göstermek için de kullanılır ve böylece deneyel yöntemler üzerinde kalite kontrolü de sağlar.
2. **Negatif kontrol:** Amacı; bilinmeyen bir değişkenin deneydeki hayvanları olumsuz etkilemediğinden emin olmak ve böylece yanlış pozitif bir sonucu önlemektir. Negatif kontrolün normal durumdan herhangi bir değişiklik üretmemesi beklenir.

Örnek 1: Deney hayvanına bir toksin uygulanır ve bunun fizyolojik değişikliklere veya lezyonlara yol açması izlenir. Ardından bu değişikliklerin önlenip önlenemeyeceği veya tedavi edilip edilemeyeceğini belirlemek için deneyel gruplarda yeni tedaviler kullanılabilir (pozitif kontrol). Negatif kontrol toksinle tedavi edilmemiş hayvanlardan oluşacaktır.

Örnek 2: İki farklı diyetin sıçanlarda yetersiz beslenmenin iyileşmesi üzerindeki etkisinin değerlendirildiği çalışmada bunun pozitif bir kontrol grubuyla karşılaştırılmasıdır (pozitif kontrol). Negatif kontrol grubu deney boyunca standart sıçan yemiyle beslenen grup olacaktır.

3. **Sham kontrol:** Sahte kontrol, bir prosedürü veya tedaviyi taklit etmek için kullanılır; ancak

prosedürün veya test maddesinin gerçekte kullanılması söz konusu değildir.

Örnek 1: Plasebo, ilaç araştırmalarında kullanılan sahte kontrol örneğidir.

Örnek 2: Enfeksiyon modelinde organa “X” maddesinin cerrahi olarak yerleştirilmesi. Tedavi edilen hayvanlara X yerleştirilirken, sahte kontrol hayvanlarına da aynı cerrahi işlem uygulanır; organ tedavi edilen hayvanlarda olduğu gibi açılır, ancak X maddesi yerleştirilmez.

4. **Taşıyıcı kontrolü:** Tuzlu su veya mineral yağ gibi deneyel bir bileşiğin bir çözeltisi için taşıyıcı olarak yer aldığı çalışmalarda kullanılır. Bir taşıyıcı kontrolünde, sözde zararsız madde tek başına kullanılır ve deneyel bileşik ile birlikte kullanılacağı şekilde uygulanır. İşlem görmemiş kontrol ile karşılaştırıldığında, taşıyıcı kontrolü, taşıyıcının tek başına herhangi bir etkiye neden olup olmadığını belirleyecektir.
5. **Karşılaştırmalı kontrol:** Bilinen bir tedaviyle doğrudan karşılaştırma için kullanılan pozitif bir kontroldür.

Örnek: X kanser tedavisinde bulunan yeni bir bileşiğin günümüzde “kabul görmüş” bir ilaç ile kıyaslayarak kanser önlemesini iyileştirip iyileştirmedikini belirlemek.

Değişkenlerin Kontrolü (15)

Deneyin insan çalışmalarına köprü olabilmesi için genelleştirilebilirliği iç ve dış geçerliliklerine bağlıdır.

İç geçerlilik, şu soruya yanıt verir: “Çalışma popülasyonunun sonuçları, kaynak popülasyonunu temsil ediyor mu?” (17)

Bir hayvan deneyinde yeterli iç geçerliliğin varlığı, farklı müdahaleler uygulanan hayvan grupları arasında gözlemlenen farklılıkların, rastgele hatanın dışında, araştırılan tedaviden kaynaklanacağı anlamına gelir (17). Bir deneyin iç geçerliliği; seçim önyargısı, performans önyargısı ve tespit önyargısı tarafından etkilenir (7,17,18,19).

- **Seçim önyargısı:** Hayvanların farklı tedavi gruplarına yanlış bir şekilde tahsis edilmesidir, tedavi grupları arasında temel özelliklerde farklılıklara yol açar. Önlemek için rastgeleleştirme (randomizasyon) yöntemi kullanılmalıdır (19).
- **Performans önyargısı:** Bir çalışma sırasında grupların nasıl ele alındığı konusunda sistematik farklılıklar olduğunda ortaya çıkar. Tedavi grupları arasında hayvanların performansını

etkileyebilecek tedavi dışındaki faktörlere maruz kalma yer alır. Örneğin; barınma koşulları, diyet, kafes başına grup boyutları gibi hayvanlara bakım sağlayan deneycilerin tedavi gruplarına karşı kör olmaması nedeniyle farklı şekilde yönetilmesinin bir sonucudur. Çalışmadaki tedavi gruplarına karşı körleştirilme (*blinding*) sağlayarak bu yanlılıktan kaçınılabılır.

- **Tespit önyargısı:** Sonuçların nasıl belirlendiği, teşhis edildiği veya doğrulandığı konusunda değerlendiricinin grupları bildiği durumlarda ortaya çıkar. Çalışmanın sonuçları sistematik olarak bozulur. Önlemenin tek yolu verileri analiz edenlerin de tamamen körleştirilmesidir (*blinding*).
- **Kayıp önyargısı (7):** Tedavi grupları arasında protokolden sapmaların ve takipte kayıpların eşit olmayan şekilde meydana gelmesidir. Hayvanlar sonuçlar gözlemlenmeden önce ölürse veya çalışmadan çıkarılırsa ortaya çıkabilir, bu da istem dışı yanlılığa neden olur. Deneyciler, her deney grubu için kayıp bilgilerini rapor etmelidir. Ayrıca, kayıp yanlılığının etkisini en aza indirmek için bir istatistikçiye danışmak faydalıdır.

Dışsal geçerlilik, sonuçların hedef popülasyona ne ölçüde yansıtılabileceğini ve bulguları farklı ölçümler, ortamlar ve zamanlara genelleştirme yeteneğini ifade eder (19). Deneylerin aynı hastalığın farklı modellerinde, farklı türlerde tekrarlanabiliyor olması ve bulguların bağımsız olarak tekrarlanması bu geçerliliği iyileştirmek için gereklidir. Dış geçerliği azaltan faktörler (17);

- İncelenen hastalığın genç ve sağlıklı hayvanlarda indüklenmesi; oysa insanlarda hastalık çoğunlukla yaşlı bireylerde ortaya çıkar ve eşlik eden hastalıkları mevcuttur.
- Homojen bir hayvan grubunda tedavi etkisi değerlendirilmektedir, oysa hastalıklar heterojen gruptadır.
- Sadece erkek veya dişi hayvanların kullanılması, oysa hastalık hem erkek hem de kadın hastalarda görülür.
- Klinikte gerçekçi olmayan tedavi başlangıç gecikmeleri; toksik veya hastalar tarafından tolere edilemeyen dozların kullanılması.
- Hayvan çalışmaları ve klinik çalışmalar arasında sonuç ölçütlerinde ve sonuç değerlendirme zamanlamasında farklılıklar.

Çalışmada cinsiyet, yaş ve hayvanın ağırlığı gibi yardımcı değişkenler gruplar arasında benzer olmalıdır. Tercihen, izojenik suşlar kullanılmalıdır. Hayvan modeli seçildikten sonra, araştırmacı varyasyonu kontrol etmeli, seçilen model sonuçlarda minimum varyasyon gösteren tedaviye duyarlı olmalıdır.

Laboratuvar ortamı, bir deneyin seyrini etkileyebilir. Birçok önemli biyokimyasal verinin oda sıcaklığına ve örneğin gündüz veya gece toplanmasına bağlı olarak değişebileceğini gösteren önemli kanıtlar vardır. Bu koşullara özen gösterilmelidir. Hayvanların beslenmesine deneyin türüne göre özellikle dikkat edilmelidir. Farklı besin maddeleri test edilirken, tüm gruplardaki diyetler aynı özellikte olmalıdır. Veri toplayan personel, projede kullanılan prosedürler konusunda değişmeden kalmalı, nitelikli ve eğitilmiş olmalıdır. Eğer cerrahi işlemler söz konusuysa, farklılıktan kaçınmak için tercihen aynı cerrah tüm operasyonları gerçekleştirmelidir.

Hayvanların gruplara ayırırken rastgele gruplara ve alt gruplara atanması, minimum varyasyon elde etmek için hayvanları bloklara bölerek sağlanabilir. Bu tekniğe “bloklama” denir ve rastgeleleştirme sırasında daha az varyasyon sağlar (13,15,17). Bu önyargıları önlemek, grupların aynı tedaviyi alma olasılığına sahip olmasını garanti etmek ve varyasyonu kontrol etmek için; rastgele atama ve körleme yöntemleri uygulanır, yanlılığı azaltır ve elde edilen kanıtları güçlendirir (13,15).

Örnek: A tedavisi iki farklı zaman noktasında iki gruptaki iyileşmeyi araştırmayı amaçlıyorsa, bu dört tedavi alt grubu olacaktır (17). Kafes başına dört benzer hayvanın katlarını tahsis etmek ve ardından bunları dört tedaviyi alacak şekilde rastgele atamak daha iyi olacaktır. Bu şekilde bloklama, hayvanlar arasında daha fazla denge sağlar ve ağırlık ve diyet gibi yardımcı değişkenlerdeki varyasyonu en aza indirir.

Neleri ve Nasıl Ölçelim?

Sonuçları değerlendirmek için ölçümler alınır; bunlar sonuç ölçütleri olarak (bağımlı değişken olarak da bilinir) kaydedilir. Tek bir deneyde bir dizi sonuç ölçütü kaydedilebilir; örneğin, kazma davranışı ölçülüyorsa, sonuç ölçütü yerinden oynatılan çakılın ağırlığı olabilir veya histolojik beyin kesitlerinden nöron yoğunluğu ölçülüyorsa, sonuç ölçütü nöron sayısı olabilir (7). Birincil sonuç ölçütü, deneyin planlama aşamasında belirlenmeli ve protokolda belirtilmelidir; bu ana deneysel soruyu yanıtlayacak olan en önemli sonuçtur.

İstatistiksel analiz amacıyla, sonuç ölçütleri iki geniş kategoriye ayrılır (7):

1. **Sürekli ölçütler:** Nicel veridir ve sayısal ölçekle ölçülür. (a) Sürekli veriler: örneğin, vücut ağırlığı, sıcaklığı, geçen süre. (b) Ayrık veriler: örneğin, yavru sayısı, doğru yanıt sayısı veya klinik skor.
2. **Kategorik ölçütler:** Sayısal olmayan bir ölçekte ölçülür; sıralı (şiddet skoru; hafif/orta/şiddetli), nominal (davranışsal yanıt, sol/sağ kol) veya ikili (hastalık durumu, mevcut/yok) olabilir.

Sürekli yanıtların ölçülmesi daha uzun sürebilir, ancak daha fazla bilgi içerir. Kategorik yanıt yerine sürekli bir yanıt ölçmek tercih edilir, daha yüksek güce sahip parametrik analizler kullanılarak analiz edilebilir; bu da gereken örneklem boyutunu azaltır (7).

Sonuçları Nasıl Yorumlayalım?

Analiz planı, deney başlamadan ve herhangi bir veri toplanmadan önce oluşturulmalı ve protokole dahil edilmelidir. Verilerin analizinden sonuçlar çıkarılacak ve ilk soru cevaplanacak ve/veya hipotezler kabul edilecek veya reddedilecektir. Bu süreç nihayetinde yeni soruların ve hipotezlerin formüle edilmesine veya yeni deneysel tasarımların yapılmasına yol açacaktır.

Sonuç

Klinik öncesi çalışmada iş akışında ve planlamada araştırmacılara şunları yapmalarını öneriyoruz:

Hazırlık Çalışmaları

1. Deneysel tasarım sürecine başlamadan önce, konuyu iyice öğrenmek için teknikler konusunda deneyimli uzmanlara danışın ve tam bir literatür taraması yapın.
2. Belirli bir soru sorun ve/veya uygun bir hipotez oluşturun. Bu sorunu/soruyu ele almak için deneyleri tasarlayın.
3. İlgilenilen yanıt(lar)da varyasyona neden olabilecek tüm olası faktörleri düşünün.
4. İlgili değişkenin değerlendirilmesini sağlamak için uygun kontroller seçin.
5. Kullanılacak toplam hayvan sayısını belirleyin. Hayvanları zamanında sipariş edin. Unutmayın! Hayvanların yeni bir ortama uyum sağlamaları birkaç hafta sürebilir.

6. Hayvanların nasıl barındırılacağını ve hangi rastgeleleştirme prosedürünün kullanılacağını planlayın.
7. Deneyleri gerçekleştirdikten sonra değil, projenin tasarım aşamasında bir biyoistatistikçiye danışın.
8. Ön veriler oluşturmak ve prosedürleri ve teknikleri belirlemek için çalışmaya küçük bir pilot proje ile başlayın. Sonra istatistiksel anlamlılık oluşturmak için daha büyük ölçekli deneylere geçin.
9. Orijinal soruyu ve prosedürleri değiştirin, yeni sorular sorun ve yeniden başlayın.
10. İş akış şeması oluşturun. Mutlaka alternatif yollar ve planlar belirleyin. Bunu farklı aşamalarda tekrar tekrar gözden geçirin.
11. Bilinen veya potansiyel tehlikeleri belirleyin ve bu tehlikelerden kaynaklanan riski en aza indirmek için uygun önlemleri plana dahil edin. Tüm deneysel prosedürleri, iyi laboratuvar uygulama standartlarına uygun koşullarda gerçekleştirin.
12. Mutlaka kontrol listeleri oluşturun, her aşamada tekrar gözden geçirin ve yapıldığını doğrulayın.
13. 3R çerçevesinde etik onay alın.

Deneylerin Gerçekleştirilmesi

1. Herhangi bir gözlem ve tasarım protokolünden sapmaların sonuçlarla birlikte kaydedildiğinden emin olun, çünkü bunlar istatistiksel analizi etkileyebilir.
2. Sonuçları etkileme olasılığı düşük olsa bile, deneylerden elde edilen tüm verileri kaydedin.

Deneyin Sonlanması ve Veri Analizi

1. Verileri analiz edin. Ortalama yanıtların analizine geçmeden önce tek tek hayvanlar için veri grafikleri oluşturun.
2. Deneyin sağlığını kontrol edin, sonuçlara etki edebilecek varyasyonları araştırın, etkilerine bakın.

Dipnotlar

Çıkar Çatışması: Makalenin yazarı, Funda Üstün, Temmuz ayında konuk editör olarak görev yapmıştır. Ancak kendisi bu makalenin editöryal değerlendirme ve hakemlik sürecinde yer almamış, hakem değerlendirmelerine ilişkin herhangi bir bilgiye erişmemiş ve nihai karar sürecine dahil olmamıştır.

Kaynaklar

1. Festing MF. Reduction of animal use: experimental design and quality of experiments. *Lab Anim.* 1994;28:212-221.
2. Hayvanları Koruma Kanunu, Kanun No: 5199 [İnternet]. 2004. Erişim linki: <https://www.mevzuat.gov.tr/-mevzuat?MevzuatNo=5199&MevzuatTur=1&MevzuatTertip=5> 17.05.2026
3. Deneyisel ve Diğer Bilimsel Amaçlar için Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik (Resmî Gazete Tarihi: 13.12.2011/28141) [İnternet]. 2011. Erişim linki: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111213-4.htm>
4. Hayvan Deneyleri Etik Kurallarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik (Resmî Gazete Tarihi: 15.02.2014/ 28914) [İnternet]. 2014. Erişim linki: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2014/02/20140215-6.htm>
5. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programına Dair Genelge (Genelge No: 2019/3) [İnternet]. Ankara: Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü; 2019. [https://www.tarimorman.gov.tr/DKMP/Belgeler/MEVZUAT/5199%20Say%C4%B1%C4%B1%20Hayvanlar%C4%B1%20Koruma%20Kanunu/11\)Deney%20Hayvanlar%C4%B1%20Kullan%C4%B1m%20Sertifikas%C4%B1%20E%C4%9Fitim%20Program%C4%B1na%20Dair%20Genelge.pdf](https://www.tarimorman.gov.tr/DKMP/Belgeler/MEVZUAT/5199%20Say%C4%B1%C4%B1%20Hayvanlar%C4%B1%20Koruma%20Kanunu/11)Deney%20Hayvanlar%C4%B1%20Kullan%C4%B1m%20Sertifikas%C4%B1%20E%C4%9Fitim%20Program%C4%B1na%20Dair%20Genelge.pdf)
6. Balls M, Bass R, Curren R, et al. 60 years of the 3Rs symposium: lessons learned and the road ahead. *ALTEX.* 2024;41:179-201.
7. Huang W, Percie du Sert N, Vollert J, Rice ASC. General principles of preclinical study design. *Handb Exp Pharmacol.* 2020;257:55-69.
8. Morton DB. The importance of non-statistical design in refining animal experiments. *REDVET.* 2008;9:1-14.
9. Varga OE, Hansen AK, Sandøe P, Olsson IA. Validating animal models for preclinical research: a scientific and ethical discussion. *Altern Lab Anim.* 2010;38:245-248.
10. Karp NA, Fry D. What is the optimum design for my animal experiment? *BMJ Open Sci.* 2021;5:e100126.
11. Shaw R, Festing MF, Peers I, Furlong L. Use of factorial designs to optimize animal experiments and reduce animal use. *ILAR J.* 2002;43:223-232.
12. Festing MF. The design and statistical analysis of animal experiments. *ILAR J.* 2002;43:191-193.
13. Rowe A. Recommendations to improve use and reporting of statistics in animal experiments. *Lab Anim.* 2023;57:224-235.
14. Dell RB, Holleran S, Ramakrishnan R. Sample size determination. *ILAR J.* 2002;43:207-213. Erratum in: *ILAR J.* 2003;44:239.
15. de Aguilar-Nascimento JE. Fundamental steps in experimental design for animal studies. *Acta Cir Bras.* 2005;20:2-8.
16. Johnson PD, Besselsen DG. Practical aspects of experimental design in animal research. *ILAR J.* 2002;43:202-206.
17. van der Worp HB, Howells DW, Sena ES, et al. Can animal models of disease reliably inform human studies? *PLoS Med.* 2010;7:e1000245.
18. Sena ES, Currie GL, McCann SK, Macleod MR, Howells DW. Systematic reviews and meta-analysis of preclinical studies: why perform them and how to appraise them critically. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2014;34:737-742.
19. O'Connor AM, Sargeant JM. Critical appraisal of studies using laboratory animal models. *ILAR J.* 2014;55:405-417.