

Laboratuvar Hayvanları Bilimi Ve Ara tırmaların Planlaması



*Vet. Hekim Cerrahi Uzm. Tayfun DE
Laboratuvar Hayvanları Bilimi Derne i
Denetim Kurulu Üyesi*

Laboratuvar Hayvanları Bilimi

- Laboratuvar hayvanlarına ait **biyolojik, fizyolojik** parametrelerinin çalı ılması yanında;
- Biyomedikal alı malarda varyasyonu d k, güvenilir verilerin elde edilmesi için **sa lıklı hayvanları yeti tirmek,**
- Hayvan deneylerini planlamak, deney sırasında gereksiz acı ve a rının önlenmek, verilerin sa lıklı yorumlanmasını sa lamak, gereksiz **hayvan kullanımı önlemek** vb. konuları amaçlamaktadır

Kapsanan konular: genel

- Lab. hayvanlarının **biyolojisi ve yeti tirilmesi, beslenmesi**
- Hayvan **refahı**
- Laboratuvar hayvanlarının **hastalıkları**
- Genetik ve mikrobiyolojik **standard**
- Hayvan kullanım **eti i**
- Hayvan **modelleri**
- Hayvan deneylerinin **planlanması** ve idaresi
- Acı, **a rının** önlenmesi, analjezi, anestezi, ötenazi

Kapsanan konular: genel

- Rutin ve kapsamlı **cerrahi uygulamalar**
Cerrahi ve mikrocerrahi
- Hayvan deneylerine **alternatifler**
- Laboratuvar hayvanı barındırma ve kullanma teknolojisi
- Laboratuvar hayvanları için bilgisayar yazılımları, veri toplama ve görüntüleme teknikleri
- Eğitim ve uygulama
- Laboratuvar hayvanları birimlerinde çalışanların sağlıklarının korunması

Komparatif Tıp Karsıla tırmalı Tıp (Comprative Medicine)

- Bunlara ilaveten
 - nsan hastalıklarının mekanizmasını açığı a çıkarmak ve tedavisi amacıyla hayvanların **model olarak kullanılması** kapsamaktadır.



JOHNS HOPKINS
MEDICINE

SEARCH:

ABOUT JOHNS HOPKINS MEDICINE | HEALTH INFORMATION | PATIENT CARE | RESEARCH | EDUCATION < HOME

THE DEPARTMENT OF
COMPARATIVE MEDICINE



[Print This Page](#)

INFORMATION:

- [Research](#)
- [Training Programs](#)
- [Comparative Pathology](#)
- [Laboratory Animal Medicine](#)
- [Phenotyping Core](#)
- [Retrovirus Lab](#)
- [Employment/Educational Opportunities](#)
- [News & Events](#)
- [Contact Us](#)
- [Make a Gift](#)

[Johns Hopkins](#)

[Animal Care
and Use](#)

Comparative medicine is a discipline in which animals are studied to discover the mechanisms of human disease. Such comparative studies are critical to move medical research from the laboratory bench to the patients' bedside and develop rational prevention and treatment for both human and animal diseases.

With its strong emphasis on developing animal models of human disease and long history of producing leaders in academic and industrial settings, the Department of Comparative Medicine conducts ground-breaking research on animal diseases and animal models of human diseases. Research activity in the department is robust; the strongest areas are animal models of AIDS and studies of rodent models of cancer and cardiovascular disease.



Our Mission

The Department of Comparative Medicine provides leadership in biomedical research on animal and human diseases and assists with the health and



Internet

Başlat



ARLH at Harvard Me...

Division of Comparati...

The Department of C...

Microsoft PowerPoint ...

TR



19 25


SEARCH
COMPARATIVE MEDICINE ONLY
ALL OF STANFORD MEDICINE

Comparative Medicine

Education ▾

Research ▾

Lab Animal Care ▾

Community ▾

School of Medicine Home > Comparative Medicine > Lab Animal Care

COMPARATIVE MEDICINE

Veterinary Medical Care

- Home
- Education
- Research
- Lab Animal Care
 - VSC Directory
 - General Information
 - Policies & Procedures / Best Practices
 - Research Support
 - The Stanford University Animal Care & Use Program
- Community
- Jobs
- Contact Information
- Preveterinary Club

Quick Links ▾

SCHOOL-WIDE INFORMATION

- Patient Care Overview

- Preventive Medicine
- Surveillance, Diagnosis, Treatment and Control of Disease
- Emergency Care
- Anesthesia and Analgesia
 - Introduction
 - Amphibians
 - Dogs
 - Ferrets
 - Mice
 - Pigs
 - Primates
 - Rabbits
 - Rats
 - Humans
 - References
- Surgery and Postoperative Care
- Euthanasia
 - Part 1: Recommended Agents and Methods of Euthanasia Listed by Species
 - Part 2: Comments on Recommended Agents and Methods of Euthanasia

Preventive Medicine



Division of Comparative Medicine - Microsoft Internet Explorer

Dooya Düzen Görünür Sık Kullanılanlar Araçlar Yarımcı

Adres http://www.ncrr.nih.gov/comparative_med.asp

National Center for Research Resources
NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH

Home | Site Map | Contact Us

Biomedical Technology | Clinical Research | Comparative Medicine | Research Infrastructure

MAIN MENU

- Research Funding Opportunities
- Access to Scientific Resources
- About NCRR
- News and Events
- Publications, Plans, and Reports
- Comparative Medicine**
 - Requests for Applications, Program Announcements, and Notices
 - Comparative Medicine Program Guidelines
 - Publications, Plans, and Reports
 - News and Events
 - Archives

Comparative Medicine



The **Division of Comparative Medicine (DCM)** helps to meet the needs of biomedical researchers for high-quality, disease-free animals and specialized animal research facilities. Through grants, cooperative agreements, and contracts, the DCM supports national primate research centers and their field stations, primate breeding and resource-related projects, core operation of mammalian and non-mammalian animal model resources, postdoctoral training, and a variety of research projects. The DCM is composed of the following programs:

- [Laboratory Animal Sciences](#)
 - [Mutar Mouse Regional Resource Centers](#)
- National Primate Research Centers
- Biological Repositories
 - [Biological Models and Materials Research](#)
 - AIDC Animal Models
 - [NIH Chimpanzee Management Program \(New Report Available\)](#)
- [Research Training and Career Development](#)
- [Investigator-Initiated Research Grants](#)
- Small Business Opportunities

Announcement: Trans-NIH Mouse Initiative. The [Facet and Esprit Knockout Mouse and Phenotypic Data](#) provides details of a contract with two companies (Deltagen, Inc. and Lexicon Genetics, Inc.) to supply knockout mouse lines and extensive phenotyping data on them to NIH and its cooperative partners. NIH will provide the research community with access to the [mouse resources and data](#) through NCRR-supported mouse repositories after a period of several months, which will be required to expand these lines. Data detailing the impact of the [specific gene deletion](#) on the mouse's phenotype, which includes appearance, health, fitness, behavior, ability to reproduce, and [radiologic and microscopic data](#) are also available.

TR 09 26

Bilimsel dergiler

- İmpakt faktörleri oldukça yüksek
- Ciddi yerleşik organizasyonlar tarafından yayınlanmakta
- Bilinen dergiler genellikle
 - Amerika
 - Avrupa
 - Japonya kökenlidir

Nobel ödülü sahiplerine sorulduğunda:

- ❗ İlerleme ve gelişme için hayvan deneyleri önemlidir % 97
- ❗ Çalışmada hayvan kullanımı olan % 74
- ❗ Hayvan deneyleri hala gereklidir % 74
- ❗ Henüz tam bir alternatif olmadığından hayvan deneylerini kısıtlamak tıpta gelişmeyi kısıtlayacaktır % 97

Tıpta kilometre taşları

- 1900- kornea transplantasyonu, lokal anestetikler
- 1920- insülin, distemper a ısı
- 1930- modern anestetikler, difteri a ısı
- 1940- antibiyotikler (penisilin), bo maca a ısı, açık kalp cerrahisi için kalp-akci er makinası
- 1950- böbrek transplantasyonu, hipertansiyon tedavisi, kalp kapakçıkları, kardiyak pacemaker'lar, polyo a ısı kalça replasmanı cerrahisi

Tıpta kilometre taşları

- 1960-** kalp transplantasyonu, koroner bypass, kızamık aşısı
- 1970-** sütür/cerrahi teknik geliřmeleri, ülser, astma, lösemi
- 1980-** CAT scanning, antiviral tedavi, rejeksiyona karřı ilaçlar, prematür ya am destek sistemleri
- 1990-** insan menenjit, kedi lösemi aşıları
anti-HIV ilaçlar, yeni kemoterapötikler, kistik fibrozisin genetik tedavisi, antidepresanlar, sağırlık ve paralizi için elektronik implantlar

Araştırma nedir ?

- Aydınlatmak,
- Çözüm getirmek,
- Kavramlara, kuramlara, ulaşabilmek için yapılan,

planlı ve bilimsel bir çalışmadır

Deney nedir?

- Etkisi ölçülebilecek i lemlerin **deneklere uygulanması,**
- Deneklerin verdikleri **yanıtların ölçümü,**
- Sonuçların **kar ıla tırılarak** karar verme safhalarını içeren bir ara tırmadır

Deneysel araştırma hangi amaçla yapılır?

- Yeni bir biyolojik **ürün** elde etmek
- Hastalıkların **nedenini** ara tırmak
- Cerrahi **yöntemlerin** etkinli i ara tırmak
- Hayvan **biyolojisi, fizyolojisini** aydınlatmak

Deneysel çalışmanın temel kuralları

- Zarar vermemek
- Saygı duymak
- Olanları ayrıntısı ile kaydetmek
- Dürüst olmak
- Gizlilik
- Ölçülebilirlik

Deneysel Araştırmanın Safhaları

1. Deneyin **planlanması**
2. Deneyin yürütülmesi **uygulama**
3. Sonuçların de erlendirilmesi **tamamlama**
4. **Yayınlanması**

Deneyin planlanması

- Konunun belirlenmesi
- Gözlem
- Orijinal fikir veya problemin ortaya konulması
- Bilgi toplama
- Değişkenlerin belirlenmesi
- Hipotez kurulması
- Hipotezi gerçekleştiren yöntemin belirlenmesi
- Araştırma protokolünün hazırlanması

Deney planlanırken dikkat edilmesi gereken konular

- Alternatif yöntemler
- Canlı hayvan kullanma nedeni, En düşük sayıda hayvan, Uygun tür-soy
- A rılı yöntem, anestetik, analjezik ve sedatifler
- Orijinalli i belirtilmeli
- Hayvanların daha önce kullanılmaması, Barınma ko ulları, Beslenme durumu
- Anestezi yöntemi , Cerrahi ve teknik, Cevabın de erlendirilme yöntemi

Deney planlanırken dikkat edilmesi gereken konular

- Cerrahi sonrası analjezik kullanımı, Enfeksiyon ajanı
- Fiziksel i lem, Davranı de i ikli i
- Bakım ekli ve kimin yapaca ı, ötenazi yöntemi
- Çalışma kontrol grupları, Toplam hayvan miktarı
- Proje bütçesi, ba langıç zamanı ve süresi
- Ara tırma ekibinin görev tanımları yapılmalıdır

Hayvan Deneylerinin Planlanması

- Hayvan deneyleri, maksimum düzeyde bilgi sağlayacak şekilde planlanmalıdır.
- Çok az sayıda hayvanın kullanılması, deneydeki gerçek muamele etkisini ortaya çıkarmak için yeterli olmayacağından doğru değildir
- Deneylerde gereğinden fazla ya da az sayıda hayvan kullanılmasının önüne geçmek için deneye başlamadan önce **deney düzeninin** planlanması
- Gerekli hayvan sayısının istatistiksel yöntemlerle belirlenmesi gerekir

Hipotezlerin Test Edilmesi

- Hipotezin test edilmesi; En basit şekliyle; bir deneysel çalışma ve kontrol olmak üzere, iki grup hayvan üzerinde yapılır.

DeneySEL Birimin Tanımı

Hayvan deneylerinde kullanılan hayvanlar; *bağımsız olarak herhangi bir deney grubuna atanabilen* “deneysel birim” olarak tanımlanmıştır.

Dolayısıyla, bu birim istatistik analizlere konu olan birimdir. Ancak, bu deneysel birim hayvanın bir bölümü ya da sistemi olabileceği gibi bir hayvan grubu da olabilir

Deneyin Büyüklüğünün (Deneysel Birim Sayısının) Belirlenmesi

Bir deneyin kaç denekten oluşması gerektiği bir çok yolla tespit edilebilir.

(a) *Örnek sayısının matematiksel ilişkilerle dayalı olarak belirlenmesi*

(b) *Kaynak ilişkisi yöntemi ile belirlenmesi*

(c) *Tecrübeye dayalı yöntem ile belirlenmesi*

Deney düzeninin seçimi

- Deney düzeninin seçimi bir çok faktöre bağlıdır.
- Bunlar arasında: bir hayvan üzerinde birden fazla **muamelenin** test edilebilirliği, birden fazla **ölçümünün** yapılabilirliği, deney için sağlanabilecek hayvan sayısı, incelenecek **muamele sayısı**, zaman ve maddi olanaklar sayılabilir.
- Dikkate alınacak en önemli faktör ise, deneyi etkileyebilecek olan faktörlerin sayısı ve tipinin tahmin edilmesi veya belirlenmesi ve muamelenin yapısıdır (basit ya da faktöryel olması).

-

Deney düzeninin seçimi

- Daha iyi deney düzenleri ile bulguların kesinliği artırılabilir ve aynı deneyin daha az sayıda hayvan kullanılarak yapılması mümkün olabilir.
- Dolayısıyla, çalışmaya başlamadan önce uygun deney **düzeninin** ve buna **uygun istatistik** analiz yöntemlerinin dikkatli olarak seçilmesi araştırmancının başarısını arttıracak gibi daha az sayıda hayvan kullanımını da sağlayarak sorumlu hayvan kullanılmasına katkıda bulunacaktır.

Bazı Deney Düzenleri

- Tamamen Rasgele (Randomize) ya da “Paralel” Düzenler
- Randomize Blok Düzenleri
- Çapraz (Ardışık) Düzen
- Latin-kare Düzenleri

Etik kurul başvurusu

- Amacı anlatan bir başlık
 - Uzun olmasından çekinmemeli
- Ara tırmacılar
 - Deneyin kurgu a ı masından makalenin (mutlaka yazılacakmı gibi) sonuna kadar emek harcayacak tüm bireyler yazılmalı

Proje desteđi başvurusu

- Esas açısından etik kurul müracaatına benzer
 - Olabildi ince ayrıntılı olmalı
 - Etik kurul onayı alındı ı belirtilmeli (TUBITAK projelerinde art)
 - Kullanılacak malzemelerin güncel olarak tedarik edilebilirli i ve tahmini alım zamanına kadar da tedarik edilebilir olaca ı tespit edilmeli
 - Güvenli firmalar, bilinen markalar

Deneyin uygulanması

2. Uygulama

- ➔ Zaman/Maliyet boyutu ve kayna ı
- ➔ Etik kurul onayı
- ➔ Uygulanabilirli in teyidi/Deney planlama
- ➔ Uygun veri analiz yöntemlerinin belirlenmesi
- ➔ Sorumlulukların dağıtılması
- ➔ Personel e itimi /Esas ara tırmaya geçi /Veri toplama/i lenmesi.

ETİK AÇIDAN UYGUN OLMAYAN HAYVAN DENEYLERİ

- ⊗ Kozmetikleri test etmek amacıyla yapılanlar
- ⊗ Askeri ara tirmalar (silah)
- ⊗ Bilimselli i tartı malı olanlar
- ⊗ Önlenemez ızdıraba neden olanlar
- ⊗ Alternatif yöntemler ara tırılmadan yapılanlar

Deneyin tamamlanması

3. Tamamlama

- ➔ Verilerin anlamlandırılması,
- ➔ Çıktıların tamamlanması ve teslim edilmesi,
- ➔ dâri i lerin tamamlanması
- ➔ Deneyimlerin değerlendirilmesi ve bunlardan ders çıkarılması.
- ➔ Sonuçların bilim dünyası ile paylaşılması.

Hayvan bakımıyla ilgili faktörler

Araştırma metoduyla ilgili faktörler

Kafesleme şekli

İşlem sayısı

Fiziksel ve çevresel faktörler

Oda ısısı

Ventilasyon

Kafesteki hayvan sayısı

Hayvana ait faktörler

İşlem süresi

Yaş, cinsiyet, üreme

Metabolik durum

Diyet ve su

Metabolik durum

Hastalık

Stres

Günlük işlemler

Çoklu kafesleme

Genetik faktörler

Biyolojik ritim

Işık siklusu ve süresi

DeneySEL stres

Gürültü

Hassas bakım

Ağrı ve sıkıntı



İdeal Model

- Klinik etyolojiye yakın olmalı
- Klinik morfolojik özellikler bulunmalı
- Değişiklikler kademeli şekilde olmalı
- Klasik patofizyolojik süreç olmalı
- Üretilbilirlik yüksek, mortalite düşük olmalı



| Rat yaşı (ay) | Rat yaşı (yıl) | İnsandaki karşılığı |
|---------------------------|-----------------------|-----------------------------|
| 1.5 ay (puberte) | 0.125 yıl | 12.5 yıl (puberte) |
| 6 ay (sosyal maturite) | 0.5 yıl | 18 yıl (sosyal maturite) |
| 12 ay | 1 yıl | 30 yıl |
| 18 ay | 1.5 yıl | 45 yıl |
| 24 ay | 2 yıl | 60 yıl |
| 30 ay | 2.5 yıl | 75 yıl |
| 36 ay | 3 yıl | 90 yıl |
| 42 ay | 3.5 yıl | 105 yıl |
| 45 ay | 3.75 yıl | 113 yıl |
| 48 ay | 4 yıl | 120 yıl |

Rat Modeli

- Erişkin bir rat için her 1 ay 2,5 insan yılına eşittir
- Menopoz
 - 15-18 ay (insan 48-55 yaş)
- Yaşam süresi
 - 2-3,5 yıl (ort 21,6 ay) (insan ort 66,7 yıl)
 - doğal ortamda <1 yıl

| | Nabız sayısı | Solunum sayısı |
|--------|---------------|----------------|
| Rat | 250-450 (350) | 77-115 (92) |
| Fare | 325-780 (470) | 94-163 (130) |
| Köpek | 77-138 (110) | 20-34 (24) |
| Tavşan | 130-325 (260) | 22-35 (25) |
| Maymun | 105-150 (115) | 32-60 (40) |

Deney hayvanlarında dolaşımdaki kan volümleri

| | Kan volümü (ml/kg) |
|-----------------|---------------------------|
| Köpek | 79-90 |
| Gineapig | 67-92 |
| Fare | 78-80 |
| Domuz | 65 |
| Tavşan | 44-70 |
| Rat | 50-70 = 10-15 ml |
| Koyun | 60 |

Sonuç olarak

- Hipotez oluşturma
- Etik kurul
 - Hazırlama
 - Başvuru
- Proje (kaynak bulma)
 - Hazırlama
 - Müracaat
- Ön çalışma yapma
- Deneyin yapılması
- Örnek toplama & ölçtürme
- Sonuçların toplanması
- Veri yorumlama & istatistik
- Özet yazma
- Bildiri sunma
- Makale yazma

Makale hazırlama ve Kavramlar



The screenshot displays the ICMJE website. The header includes the ICMJE logo and the text 'INTERNATIONAL COMMITTEE of MEDICAL JOURNAL EDITORS'. A search bar is located in the top right corner. The navigation menu includes links for 'About ICMJE', 'Uniform Requirements for Manuscripts (URM)', 'Journals Following URM', 'Updates & Editorials', 'Archives', and 'External Links'. The main content area is divided into two columns. The left column features the title 'Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Ethical Considerations in the Conduct and Reporting of Research: Authorship and Contributorship' and a sub-section 'Byline Authors' with a paragraph defining an author. The right column features the title 'Uniform Requirements for Manuscripts (URM)' and a sub-section 'Statement of Purpose' with three links: 'About the URM', 'Potential Users', and 'How to Use the URM'.

ICMJE INTERNATIONAL COMMITTEE of MEDICAL JOURNAL EDITORS

FREQUENTLY ASKED QUESTIONS | CONTACT US

SEARCH GO

[About ICMJE](#) [Uniform Requirements for Manuscripts \(URM\)](#) [Journals Following URM](#) [Updates & Editorials](#) [Archives](#) [External Links](#)

Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Ethical Considerations in the Conduct and Reporting of Research: Authorship and Contributorship

Byline Authors

An "author" is generally considered to be someone who has made substantive intellectual contributions to a published study, and biomedical authorship continues to have important academic, social, and

Uniform Requirements for Manuscripts (URM)

Statement of Purpose

- [About the URM](#)
- [Potential Users](#)
- [How to Use the URM](#)

Yazarlık Kavramı

- **"yazar"** genel olarak yayınlanmış bir araştırmaya entelektüel katkıda bulunan bir kişi olarak düşünülür
- **Bir yazar**, eserin en azından bir bileşeninin sorumluluğunu üstlenmeli, her bir bileşen için kimlerden sorumlu olduğunu saptamalı ve ideal olarak kendi yazarlarının yetenek ve dürüstlüğünden emin olmalıdır

Yazarlık Kavramı

- **Yazarlık**
- 1) kavrama ve tasarıma önemli katkılar sağlayan, verilerin edinilmesi veya verilerin analizi ve yorumlanması işlerini yapan
- 2) Makaleyi hazırlamak ya da önemli entelektüel içerik için onu eleştirel bir yaklaşımla gözden geçirmek
- 3) yayınlanacak olan makalenin nihai onayı

Yazarlık Kavramı

- Araştırma grubunun finansmanının, veri toplanmasının veya genel denetiminin tek başına yapılması, **yazarlığı** oluşturmaz .
- Yazar olarak atanan tüm kişiler yazarlık hakkına sahip olmalı ve katkılarına göre olanlar listelenmelidir.
- Her yazar, içeriğin uygun bölümleri için sorumluluğunu üstlenmek için çalışmaya yeterince katılmış olmalıdır.

Basic Studies

Rat liver fibrosis regresses better with pegylated interferon $\alpha 2b$ and ursodeoxycholic acid treatments than

from quiescent HSCs, or other liver cells. Although it is not completely known as to how apoptosis of HSCs is controlled in the liver, regression or complete resolution of fibrosis may be possible through removal of the activated HSC population because this cell population is an important source of both ECM and TIMPs. Therefore, induction of HSCs' apoptosis and thereby enhancing the recovery capacity of the liver while effectively treating the underlying disease may be a promising antifibrotic treatment strategy.

Interferons, which are used widely in the treatment of chronic viral hepatitis, are biological proteins exerting functions in various cellular activities. Depending on the type of molecule, interferons have antiviral, antiprotozoal and immunomodulatory actions, with effects on cell growth and differentiation (18, 19). Higher re-

Methodology

Animals and treatment strategies

The study was approved by the Institutional Animal Use and Care Committee of Gulhane Medical Academy, Ankara, Turkey, and was performed in accordance with the National Institutes of Health guidelines for the care and handling of animals. All the animals were fed standard rat chow and water *ad libitum*, and housed in metabolic cages with controlled temperature, with 12-h light/dark cycles.

Sixty male Sprague–Dawley rats weighing 250–400 g were randomly divided into four groups, and injected s.c. with 2 ml/kg of sterile carbon tetrachloride (CCl_4) at a 1:1 ratio with olive oil twice weekly for 12 weeks in order to induce liver fibrosis. Hepatotoxin injection was stopped

Methodology

Animals and treatment strategies

The study was approved by the Institutional Animal Use and Care Committee of Gulhane Medical Academy, Ankara, Turkey, and was performed in accordance with the National Institutes of Health guidelines for the care and handling of animals. All the animals were fed standard rat chow and water *ad libitum*, and housed in metabolic cages with controlled temperature, with 12-h light/dark cycles.

Sixty male Sprague–Dawley rats weighing 250–400 g were randomly divided into four groups, and injected s.c. with 2 ml/kg of sterile carbon tetrachloride (CCl₄) at a 1:1 ratio with olive oil twice weekly for 12 weeks in order to induce liver fibrosis. Hepatotoxin injection was stopped

performed in accordance with the National Institutes of Health guidelines for the care and handling of animals. All the animals were fed standard rat chow and water *ad libitum*, and housed in metabolic cages with controlled temperature, with 12-h light/dark cycles.

Sixty male Sprague–Dawley rats weighing 250–400 g were randomly divided into four groups, and injected s.c. with 2 ml/kg of sterile carbon tetrachloride (CCl₄) at a 1:1 ratio with olive oil twice weekly for 12 weeks in order to induce liver fibrosis. Hepatotoxin injection was stopped by the 12th week. Then, Group I was observed for spontaneous recovery for 4 weeks. Group II was treated with PEG-IFN α 2b (1.5 μ g/kg), i.m., once weekly, Group III with UDCA 25 mg/kg/day via gastric tube, and Group IV with a combination of these two drugs with the same regimen. Treatments began 3 days after the last injection of CCl₄. All the rats underwent laparotomy under Sevoflurane (Sevorane[®] Liquid

cirrhosis, and exerts direct effects at cellular and molecular levels by stabilizing membranes, affecting signal transduction and regulating immune responses. Long-term UDCA therapy signifi-

262

Histopathological examinations

Paraffin-embedded tissue sections were stained with hematoxylin–eosin, examined, and scored

by two pathologists who were blinded to the treatment protocol. The degree of fibrosis was scored as (0) absent, (1) slight, (2) moderate, and (3) severe according to a previously used method (31) with small modifications. Histopathological evaluation was performed twice in five sections per slide from all animals in each group.

Peg-IFN α 2b and UDCA in liver fibrosis

power fields from each specimen were determined.

TIMP-1 and MMP-13 measurements

Liver TIMP-1 and MMP-13 levels were measured by using two commercial kits (Catalog Numbers: DTM 100 and F-13M00, respectively, RD Systems, Inc., Minneapolis, MN). The time course

counted the number of apoptotic cells in 30 random high-power fields from each specimen. Apoptotic bodies in a distribution compatible with parenchymal cells were not counted.

Demonstration of activated HSCs

The tissue samples stained with the TUNEL technique were stained for monoclonal rat anti- α -smooth muscle actin (anti- α -SMA, Sigma St Louis, MD) with the labelled streptavidin-biotin

Hydroxyproline measurement

Liver tissue hydroxyproline measurement was performed using method of Bergman and Loxley (32) with small modifications including duration of incubation of samples in Ehrlich's solution (35 min at 60 °C instead of 25 min at 60 °C) and dissolving hydroxyproline in the homogenates by concentrated HCl at 110 °C.

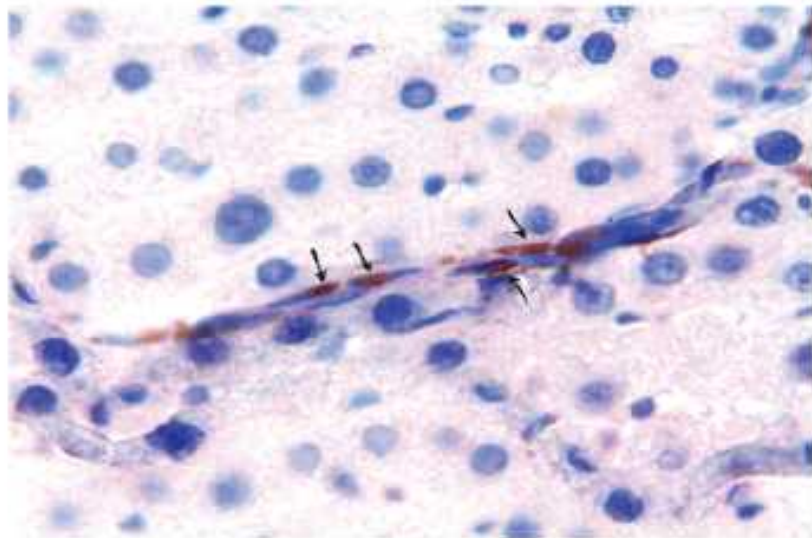


Fig.6. Apoptotic activated hepatic stellate cells (arrows) in Peg-IFN α 2b plus UDCA treated group. (Double stained with TUNEL and anti- α SMA, \times 400)

lation of matrix by degrading overproduced collagen types. However, collagenase activity decreases as the fibrosis progresses (5–7) through actions of TIMPs. The TIMPs interact with a 1:1 stoichiometry with MMPs to inhibit their activity (34). TIMP-1 was shown to be an important regulator of cellular growth and apoptosis (35, 36). Although TIMPs were reported to inhibit apoptosis of several cell types independent of collagenase inhibition (37, 38), there is an anti-apoptotic activity of these proteins on activated HSCs mediated through inhibitory effects on MMPs (18). It is not completely known as to how apoptosis of HSCs is controlled in the liver. As activated HSCs are important sources of both ECM and TIMPs, regression of fibrosis may be possible through removal of these activated cells or reversal of activation status. However, no







LG N ZE TE EKKÜR EDER M



Tayfun DE
Uzm. Vet. Hekim
Laboratuvar Hayvanları Bilimi Derne i
Yönetim Kurulu Üyesi