

Hayvan Modelleri: Molekülden Hastalıĝa

Beyza Ural,  d l  zkan, Berna Yildiz, Ozan  zcan,  lterif Kaĝan
Türkyilmaz, Beyza Arslan
Danifman: Yrd. Doĝ. Dr. Yunus Kasım Terzi

ÖZET

Model hayvan biyolojik olayların anlaşılması için yapılan deneylerde, hipotezi bilimsel kurallara göre kurulmuş araştırmalarda ve biyolojik testlerde kullanılan hayvanlardır. Model hayvan kullanılmasının amacı hücre, doku, organ ve sistem düzeyinde biyolojik, fizyolojik ve patolojik mekanizmaları anlamak, sistem ve sistemler arası ilişkiyi  ĝrenmek, hastalıklara karşı tedavi yolları bulmak ve hastalık veya hasarın tanısı için yöntemler geliştirmektir. Günümüzde pek çok hastalık için, ilgili hastalıĝın gelişiminde etkili olan mekanizmaların anlaşılmasını hedefleyen hayvan modelleri oluşturulmuştur. Bununla birlikte, hayvan modelleri kullanılarak yapılan deneylerde etik kurallara uygun davranılmasının önemli bir zorunluluk olduĝu da unutulmamalıdır. Sonuç olarak, hayvan modelleri, insan hastalıklarının patogenezi anlamakta deĝerli birer araç olmakla beraber, bu canlıların sahip oldukları t re özgü özellikler insanın hastalık patogenezinin bire bir oluşturulmasına engel olabilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hayvan Modeli, DMD, Parkinson, Alzheimer, Kanser

GİRİş

Biyolojik olayların anlaşılması için, hipotezi bilimsel kurallara göre kurulmuş araştırmalarda ve biyolojik testlerde kullanılan canlılara model organizma denir. Hücre, doku/organ ve sistem düzeyinde yapılan çalışmalarda en uygun model organizmayı seçmek, araştırmanın başarıya ulaşmasında en kritik aşamalardan biridir.  rnek olarak hücre döngüsünün düzenlenmesi, veziküler transport, protein katlanması ve DNA onarımı gibi temel ökaryotik hücre fonksiyonlarının çalışılmasında maya (*Saccharomyces*) gibi tek hücreli canlılar, sinyal iletimi veya protein-protein etkileşimlerinin önemli olduĝu genlerin koordineli fonksiyonlarının çalışılmasında ise *Caenorhabditis elegans* veya *Drosophila* gibi basit omurgasız canlılar iyi birer model olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte basit omurgalı hayvanlar ( rn. *zebrafish* veya kurbaĝa) veya memeli hayvanlar ( rn. fare) ise insan hastalık modellerinin oluşturulmasında veya organizma düzeyinde etkilerinin anlaşılmasında kullanılan model canlılardır. Birçok hastalıĝın işleyişinin açıklanması için hayvan modelleri oluşturulmuştur. Buna  rnek olarak *Distrofin* genindeki mutasyon sonucu ortaya çıkan ve kas yıkımıyla karakterize olan Duchenne Müsküler Distrofisi (DMD)'nde oluşan kas patolojisini anlamak için geliştirilen "mdx fare" ve Golden Retriever'da müsküler distrofi (GRMD) modelleri verilebilir. DMD dışında, Parkinson, Alzheimer gibi

nörodejeneratif hastalıklar, tümörigenez ve metastaz mekanizmasını anlamak için oluşturulan kanser modelleri, çevresel faktörlerin gelişiminde etkili olduğu bilinen psikiyatrik rahatsızlıkların mekanizmasının anlaşılması için geliştirilen hayvan modelleri de bulunmaktadır. Hayvan modelleri oluşturulmasında uygulanan genel strateji hedef genin susturulması (knock-out) ve bu genin eksikliğinde hücre veya organizma düzeyinde etkilerinin incelenmesidir. Hayvan modelleriyle yapılan deneylerde kullanılan hayvanlara etik kurallara uygun olarak yaklaşılmalıdır. Türler arasındaki farklılıklar sebebiyle kullanılan hayvan modelleri hastalıkların anlaşılmasında ne kadar önemli olursa olsun insanı tam olarak yansıtmaz, bu nedenle sonuçlar değerlendirilirken deney hayvanlarındaki ve insandaki farklılıklar göz önünde bulundurulmalıdır.

Bu çalışma kapsamında model hayvan tanımı, model hayvan kullanım amaçları, model hayvan olarak kullanılan canlılar ve kullanıldıkları hastalıklar, model hayvan oluşturulmasında kullanılan teknolojik yöntemler ve model hayvan kullanımının etik açıdan uygunluğu konusunda araştırmalar yapıldı.

Model hayvan

Model hayvan biyolojik olayların anlaşılması için yapılan deneylerde, hipotezi bilimsel kurallara göre kurulmuş araştırmalarda ve biyolojik testlerde kullanılan hayvanlardır.⁽¹⁾

Model hayvanın kullanım amaçları

Bütün organizmalarda var olan türler arası benzerlikler, bir organizma ile yapılan çalışmanın diğer türler için de veri kaynağı olarak kullanılabileceği anlamına gelmektedir. Bu nedenle insanda fizyolojik, biyolojik ve patolojik işlemlerin ve gelişiminin anlaşılmasında model canlılar çok önemli birer araçtır. Modelin, genom haritasının çıkartılması, sahip olduğu fizyolojik, metabolik ve gelişimsel özelliklerin bilinmesi, insan genetik hastalıklarının mekanizmasının aydınlatılmasında çok önemli birer araç olmalarını sağlar.

Hayvan çalışmalarında amaç; hücre, doku, organ ve sistem bağlamında fizyolojik ve patolojik mekanizmaları anlamak, sistem ve sistemler arası ilişkiyi öğrenmek, hastalıklara karşı tedavi yolları bulmak ve hastalık veya hasarın tanısı için yöntemler geliştirmektir⁽²⁾.

Model hayvan olarak kullanılan canlılar

In vitro çalışmalar genellikle hücre düzeyinde basit reseptör-ligand ilişkisi, enzim inhibisyonu gibi kimyasal ilaç testleri, proteinlerin hücre içi yerleşimi

ve diğ er proteinler ile etkileş imi gibi mekanizmaların anlaş ılması için yapılan çalış maları iç erir. Ancak *in vitro* sonuçlar, *in vivo* sonuçlar ile fiziki koş ulların farklı lı ğ ından dolayı çok az benzerlik gösterir. Bunun sebepleri arasında metabolizmanın eksikliği ve farklı dokularla etkileş iminin gerçekleş memesi gösterilebilir. Bu kapsamda kullanılan model hayvanlar küçük boyutlu ve deneysel açı dan verimli olmaları ve genomik iş lenebilirlikleri nedeni ile çok sayıda bileş enin hızlı bir şekilde anlaş ılmasına olanak tanır⁽³⁾.

Model hayvanlar incelenirken omurgalı ve omurgasız olarak ikiye ayrılır.

1. Omurgasızlar:

Caenorhabditis elegans (*C. elegans*) bir nematoddur. Geliş imin ve fizyolojinin genetik kontrolünü anlamak için uygun bir canlıdır. *C. elegans*, genom dizisi tamamen tanımlanan, ilk çok hücreli canlıdır⁽⁴⁾. *C. elegans*'ın apoptozu geniş bir biçimde çalış ılmış ve regülasyonunun memelilerle yüksek benzerlik gösterdiği görülmüştür. *C. elegans*'ın apoptozis iç eren genlerinin ve bu süreci düzenleyen bileş enlerinin kanser tedavisinde ve nörodejeneratif hastalıklarda öneminin oldu ğ u gözlenmiştir.

2. Omurgalı lar:

Guinea Pig, Kobay (*Cavia porcellus*); Robert Koch ve diğ er bakteriyolojistler tarafından, bakteriyal enfeksiyonlarda konak olarak kullanılmış tır. Bu nedenle günümüzde de "laboratuvar hayvanı" olarak adlandırılmaktadır.

Tavuk, (*Gallus gallus domesticus*); bir amniyota olarak geliş im çalış malarında kullanılır ve mikromanüplasyon için uygundur.

Kedi, (*Felis cattus*); nörofizyolojik araşt ırmalarda kullanılır.

Köpek, (*Canis lupus familiaris*); solunumla ilgili ve kardiyovasküler konularda önemli bir modeldir.

Fare, (*Mus musculus*); omurgalı ların klasik model hayvanıdır.

Sıç an, (*Rattus norvegicus*); özellikle toksikoloji modeli olarak kullanış lıdır, ayrıca nörolojik modeldir.

Zebra balığı, (*Danio rerio*); geliş mesinin erken dönemlerinde iç vücut anatomisinin görü lmesine imkân veren, neredeyse ş effaf vücuda sahip bir tatlı su balığıdır. Zebra balıkları geliş im çalış malarında, toksikoloji ve toksikopatolojide, özgül gen fonksiyonları ve sinyalleş me yollarının araşt ırılmasında kullanılır⁽⁵⁾.

Zebra balığ ının bir model organizma olarak seç ilmesinin temel nedeni Zebra balığı embriyoları dış geliş im gösterirler ve embriyolar saydamdır. İ laç, suda ç özü ndükten sonra difüzyonla embriyolara girer⁽⁶⁾. Bu durum ilaç testlerinin etkisinin iç organlara bakılarak anlaş ılmasına olanak verir. Balıklar, bakımı ve yetiştirilmesi kolay, doğ urgan omurgalı larıdır. Zebra balığ ının, *C. elegans*'dan daha kullanış lı bir model olmasının nedeni,

memeliler ile ortak organ sayısının fazla oluşudur. Çoğu insan geni Zebra balığıyla homologdur ve fonksiyonel proteinler (ATP bağlayıcı kinazlar gibi) benzerdir⁽⁷⁾.

Hayvan seçiminde geçerli olan kriterler

Uygun hayvan modeli seçmeden önce alternatif yöntemler, yani hayvan dışı modeller üzerinde durulmalıdır. Daha sonra elde edilen bulguların *in vivo*'da test edilmesi için hayvan modeli düşünülmelidir⁽⁸⁾.

Hayvan modeli seçiminde planlanan türe ait anatomik, fizyolojik ve davranış karakterlerinin iyi bilinmesi önemli bir avantaj sağlayacaktır.

Seçilecek hayvanın^(1, 9);

- İnsan genomu ile homolojisinin yüksek olması,
- Kısa yaşam döngüsüne sahip olması,
- Jenerasyonlar arası sürenin kısa olması,
- Embriyonik gelişimine müdahalenin kolay ve gelişiminin kolayca incelenebilir olması,
- Kolay kültüre alınabilmesi,
- Deney manipülasyonlarına uygun olması,
- Genetik uygulamalar için uygunluk sağlayabilmesi,
- Genetik analizlere uygun olması,
- Etik açıdan sorun teşkil etmemesi,
- Organizma büyüklüğünün uygun olması,
- Kolay bulunabilirlik ve uygulanabilirlik içermesi ve
- Ekonomik açıdan ulaşılabilir olması gerekmektedir.

Model hayvan tipleri

Dört hayvan modeli kullanılmaktadır:

1-İndüklenmiş Model: Bu modelde amaç, cerrahi yolla ya da kimyasal maddeler ile hayvanlarda oluşturulan hastalıkları, hedef organizmada görülenlere benzer kılmaktır. Tür seçimi yapmayı mümkün kılan tek model çeşididir.

2- Spontan Model: Genetik olarak kendiliğinden oluşan ve insanlardakine benzer patoloji ve semptom gösteren hastalıkların hayvanlar üzerinde geliştirilen modelleridir. Çeşitli hastalıklarla ilgili spontan modelleri oluşturmak için, genetik varyantlardan yararlanılır. Örneğin knock-out farelerde allerjen sensitizasyon gerekmeden astım oluşabilmekte, bu yüzden intrensek astım için iyi bir model olmaktadır.

3- Negatif Modeller: Bazı hastalıkların hiç gelişmediği hayvan türleri vardır; hemen hemen, spontan modellerin zıttıdır. Negatif modellerde

hayvan bilinen bir uyarıya reaksiyon göstermez. Örneğin tavşanlarda genokok enfeksiyonu gibi özel bir durum gerçekleştirilemez.

4- Olası Modeller: Bazı hastalıklar ilk olarak hayvanlarda tanımlanmıştır. Olası modeller daha sonra insanda benzeri tanımlanabilecek olan durumların çalışıldığı modellerdir. Benzer bir hastalık insanda görülürse model adapte edilir⁽⁹⁾.

İnsan hastalıklarında model hayvan kullanımı

Model hayvanlar, günümüzde sık görülen pek çok hastalığın tedavisinde kullanılabilirler. Nörodejeneratif hastalıklar (Parkinson, Alzheimer gibi), kas hastalıkları (DMD), Otizm, Şizofreni, MS, Kistik Fibroz, böbrek yetmezliği, Frajil X, Diyabetes Mellitus, kanser, romatizma, astım, hipertansiyon, yanma ve enfeksiyon gibi durumlar örnek olarak gösterilebilir.

Bu raporda, görülme sıklıklarına dayanarak DMD ve Parkinson hastalıklarına detaylı olarak yer verilmiştir.

Duchenne Muscular Dystrophy (DMD)

X'e bağlı kas bozukluğu olarak DMD genlerindeki mutasyon sonucu ortaya çıkan ve kas yıkımıyla karakterize edilen bir hastalıktır. DMD genleri sarkolemmal proteini olan distrofini kodlar ve distrofin kaybı da kas dejenerasyonuna ve nekroza neden olur.

Bu bozukluğun başlangıcı 2 ile 5 yaşlarındaki çocuklarda gözlenen yürüme zorluğu ile fark edilir. İskelet kası dejenerasyonu gelişir ve hastaların ilereyen yaşla beraber tekerlekli sandalye kullanmasına neden olur. DMD hastaları yaklaşık 30 yaşlarında solunum veya kalp yetmezliği sonucu hayatlarını kaybederler.

DMD'nin tedavisi için çeşitli deneysel yaklaşımlar vardır. Viral vektör kullanılan gen tedavisi, exon-skipping tedavisi, kök hücre transplantasyonu, *read-through* tedavisi ve farmasötik ajanlar geliştirilmiştir. Ancak bunların hiçbirisi klinikte başarıya ulaşamamıştır. Tedavi yöntemlerinin geliştirilebilmesi için DMD patogenezinin aydınlatılmasına ve uygun hayvan modellerine ihtiyaç duyulur. DMD geninde mutasyon olan çeşitli fare modelleri belirlenmiştir. Bu modeller kolay ve güvenli bir şekilde çoğaltılabildikleri için patojenik mekanizmaları ve tedavisel yaklaşımları açıklamak için etkili modellerdir.

Şimdiye kadar birçok farklı DMD köpek modeli geliştirilmiştir. Köpeğe ait DMD geninin mutasyonları Golden Retriever, Rottweiler, German Short-Hair Pointer ve Cavalier King Charles Spaniels'de belirlenmiştir. Golden Retriever'da müsküler distrofi (GRMD) en yaygın olarak incelenen ve karakterize edilen modeldir⁽¹⁰⁾.

Parkinson hastalığı (Parkinson Disease, PD)

Yıllarca süren araştırmalara rağmen, Parkinson hastalığı hala tam olarak anlaşılamamakla beraber mitokondrial disfonksiyonların, Parkinson hastalığının patolojisinde önemli rol oynadığı anlaşılmıştır. Mitokondrial genleri etkilenmiş fare modelleri sadece PD'yi anlamaya yardımcı olmamakta, aynı zamanda tedavi yollarını test etmek için de güçlü bir araç olmaktadır.

Parkinson hastalığı (PD), yaşa bağlı olarak nörodejenerasyon gösteren ve dört ana belirtisi olan yaygın bir hastalıktır. Bunlar; eklemlerde bükülememe, zihinsel ve fiziksel etkinliklerde yavaşlama, vücut duruşunda dengesizlik ve titremedir. 65 yaşın üstündeki populasyonun %1-2 lik bir kısmını etkiler ve şu ana kadar kayıtlara geçmiş PD'lerin büyük bir kısmının nedeni bilinmemekle beraber, literatürde hastalığın otozomal resesif ve dominant formları belirtilmiştir.

Özellikle PD'de olmak üzere, mitokondrial bozukluklar nörodejenerasyon olaylarında birincil veya ikincil etki olarak bahsedilirler. Mitokondrial DNA (mitDNA) mitokondride transkribe edilir, translasyona uğrar ve Complex II hariç oksidatif fosforilasyon (OXPHOS) yolaklarının alt birimlerine katkıda bulunur. OXPHOS, mitokondride gerçekleşen ve hücrel fonksiyon, sinyal yolları ve canlılık için gerekli enerjinin, yani ATP'nin üretildiği bir yoldur. Bu durum bütün hücreler için geçerli olmasına rağmen mitokondrinin önemi, özellikle sinir hücrelerinde eşsiz elektrofiziksel amaçlar ve potansiyel farkın korunumu için gerekli olan ATP ihtiyacı nedeniyle çok büyüktür.

Complex I eksikliği olan ilk transgenetik fare **Ndfus4-/-** tür. Ndfus4-/-, merkezi sinir sisteminde herhangi bir nöroanatomik kusur göstermemesine rağmen, normal zamandan önce ölmüştür.

Son zamanlarda, dopaminerjik nöronlarda mitDNA bozulmasına bağlı OXPHOS eksikliğini gösteren iki adet Parkinsonik fare modeli bulunmaktadır. Bunlardan ilki olan "**Mito-Park**", dopaminerjik nöronlardaki *mitokondrial transkripsiyon faktör A* (TFAM) geninin "DAT driven-Cre" aracılığıyla inaktivasyonunda kullanılmaktadır.

Başka bir modelde, dopaminerjik nöronlarda mitokondri hedefli endonükleazın (mito-PstI) ifadenmesi, mitDNA'nın çift zincirinde kırılmalar meydana getirmektedir. Mito-PstI ifadenmesi mitDNA düzensizliği ve azalması ile mitokondri zarında membran potansiyelinin bozulmasına ve OXPHOS eksikliğine neden olmaktadır. "**PD-mito-PstI**" faresi Mito-Park faresiyle karşılaştırıldığında 9 ay sonra %60 lık bir selektif nöron kaybı göstererek daha yavaş bir süreçle ilerlemesi dışında, benzer biyokimyasal ve davranışsal fenotip göstermiştir. PD-mito-PstI faresi aynı zamanda aksonlara özgü DA (Dopamin) kaybı ve azalmasıyla SN

(*substantia nigra*) hücrelerinde gövde kaybından kaynaklanan davranış bozuklukları göstermiştir. Mito-Park ve PD-mito-PstI fareleri PD’de mitokondrial bütünlüğün önemini açıkça göstermiştir.

Parkin ve **PINK1** proteinlerini sırasıyla kodlayan PARK2 ve PARK6 genleri, erken kalıtsal PD’de mutantlardır. Parkin ve PINK1 aynı şekilde etki gösterirler: Mitokondrinin fonksiyonunu ve morfolojisini etkilerler. Parkin ve PINK1 aynı zamanda membran potansiyeli düşük mitokondrileri hedef alarak mitofajiye yani fonksiyon göremeyen mitokondrilerin temizlenmesi olayını ilerletirler. Parkin ve PINK1’deki mutasyonlar mitokondri kalitesi gözlemlendiğinde fonksiyon kaybı yaratan kusurlar meydana getirirler.

Tablo 1. Parkinson hastalığı ile ilişkili oluşturulmuş hayvan modelleri

Parkinson's hastalığı fare modelleri	Genetik Değişiklikler	Motor Fenotipler	PD patolojisi	DA Bozukluğu	SN DA Nörodejenereasyon	Referanslar
Parkin –/–	Germline inaktivasyon	Çelişkili: İnce motor hareketleri bozuk değil veya hafif değişiklikler var	Hayır	Hayır	Hayır	Goldberg et al. (2003); Perez and Palmiter (2005); and Von Coelln et al. (2004)
DJ-1 –/–	Germline inaktivasyon	Yok	Hayır	Bozuk DA alımı	Hayır	Goldberg et al. (2003); and Kim et al. (2005)
PINK1 –/–	Germline inaktivasyon	Yok	Hayır	Uyarılmış bozuk DA salınımı	Hayır	Akundi et al. (2011); and Kitada et al. (2007)
Ndusf4 –/–	<i>DAT driven cre; loxed p Ndsuf4 (complex I subunit)</i>	Yok	?	Bozuk DA salınımı	Hayır	Sterky et al. (2011)
"Mito-Park"	<i>DAT driven cre; loxed p TFAM</i>	3-4 aylıkken başlar; spontan aktivitesinde düşüşler ve titreme gelişir; 8. Ayda durum kötüleşir (sacrificed) (L-DOPA reversible)	Anormal mitokondrial birikim	Striatumda DA'da azalma	Evet, ilerleyici	Ekstrand et al. (2007)
PD-mito-PstI	Transgenik Mitokondriyal mtDNA hedeflenmiş restriksiyon endonükleaz	2-4 aylıkken başlar; declines in spontaneous activity deficit on pole testinde spontan aktivite eksikliği (L-DOPA reversible)	Eksik	Striatumda DA'da azalma	Evet, ilerleyici	Pickrell et al. (2011b)

PD’de fare modelindeki sınırlamalar

Kemirgenleri model olarak kullanırken en büyük şüphe şu ana kadar oluşturulmuş modellerin hiçbirinde kalıtsal PD'lerin tüm özelliklerini barındıran farenin olmamasıdır.

İnsan ve fare SN (substantia nigra)'leri arasındaki bir diğer büyük fark ise, faredeki nöromelanin yoksunluğudur. Nöromelanin için pozitif SN hücreleri insan PD patolojisinde daha hassastırlar. Nöromelanin demire bağlanır ve sitoplazmada yükselen DA (Dopamin)'ya bağlı olarak dopamin sentezinde bir yan yol olarak işlev görür. Fare modellerinde nöromelanin etkisi tam olarak özetlenmediği için mitokondrial fonksiyona etkisi veya PD patolojisine katkısı kesin değildir.

Mitokondrial bozukluk, PD'de meydana gelen bir özelliktir ve uygun fare modelleri ile araştırmacılar, her geçen gün DA nöronlarındaki seçici dejenerasyonlarda mitokondrinin nasıl bir rol oynadığını anlamaya daha çok yaklaşmaktadır⁽¹¹⁾.

Hastalıklar özelleştikçe, kullanılacak hayvan modelleri de özelleşir

İmmünsistem fonksiyonu bakımından farenin insana oldukça yakın olduğu, kardiyovasküler ve diyabet mekanizmaları söz konusu olduğunda ise insana en yakın benzerlik gösteren türün köpek olduğu bilinmektedir. Hipertansiyon çalışmalarında ise çoğunlukla sıçan, kedi ve köpekler tercih edilmektedir. Yeni doğan ölümlerinin araştırmasında ise deney hayvanı olarak koyunlar kullanılmaktadır. Kistik fibrozis modeli olarak özellikle domuz seçilirken, genetik bazlı çalışmalarda fare modelleri sıklıkla tercih edilmektedir. Obezite araştırmalarında, fare soyları hızlı kilo artışı ile birlikte diyabete yatkınlıkları ve kısa ömürlü oluşları nedeniyle iyi birer model olarak kabul edilirken aynı türün soyları yaşam sürelerinin kısalığı nedeniyle uzun süreli toksisite çalışmalarının uygun görülmezler⁽¹²⁾.

Filogenetik bakımdan insana yakınlık önemli olmakla birlikte, bu durum her zaman model olarak seçilme garantisi sağlamaz. Örneğin evrimsel süreç bakımından şempanzeler, insanlara daha yakın bir türdür. HIV virüsü ile enfekte olabilirler fakat hastalık tablosu gelişmeyebilir. Bu durumda insana daha az yakın bir tür olan kedilerde FIV (Kedi Immün Yetersizliği Virüsü)'in varlığı, insandaki HIV virüsünün yol açtığı AIDS hastalığının gelişimi ve belirtilerine benzer bir tablo oluşturmaları nedeniyle daha iyi bir model olarak değerlendirilir.

Model hayvanların oluşturulma şekli

Bir modelin araştırmalarda kullanılabilmesi için, incelenecek olan özelliklerin modifiye edilmesi gerekir. Bu modifikasyonlar için geliştirilmiş teknolojik yöntemler, hastalıkların tanı ve tedavisinde kullanılmaktadır. Retrovirüsler, homolog rekombinasyon yöntemi, gen hedefleme teknolojisi ve gen terapi en güncel olarak kullanılan teknolojilerdir.

Knock-Out fare

Knock-out fare laboratuvar koşullarında araştırmacılar tarafından yapılan, bir geni belirli bir DNA parçasıyla inaktif edilmiş ya da "Knock-out" olmuş deney faresidir. Bu gen kayıpları genelde farenin fenotipinde (görünüşü, davranışı ve diğerk görülebilen biyokimyasal ve fiziksel etkileşimlerinde) değışikliğı neden olur.

Knock-out aktivitesi bize genin fonksiyonu ile ilgili ipuşları verir. İnsanlar fareler ile birçoğ gen paylaşır. *Knock-out* farenin karakterine bakılarak genlerin işleyişindeki benzerliklere ya da hastalıkların mekanizmalarına dair bilgi edinilir.

şu ana kadarki çeşitli kanser türleri, obezite, kalp hastalıkları, diabet, madde bağımlılığı, stres, yaşlanma ve Parkinson hastalığı konularında *knock-out* fareler olduğça faydalı olmuşlardır. Ayrıca bu fareler tedavide de biyolojik kobay olarak kullanılarak ilaşların test edilmesinde önemli-dir⁽¹³⁾.

Gen hedefleme

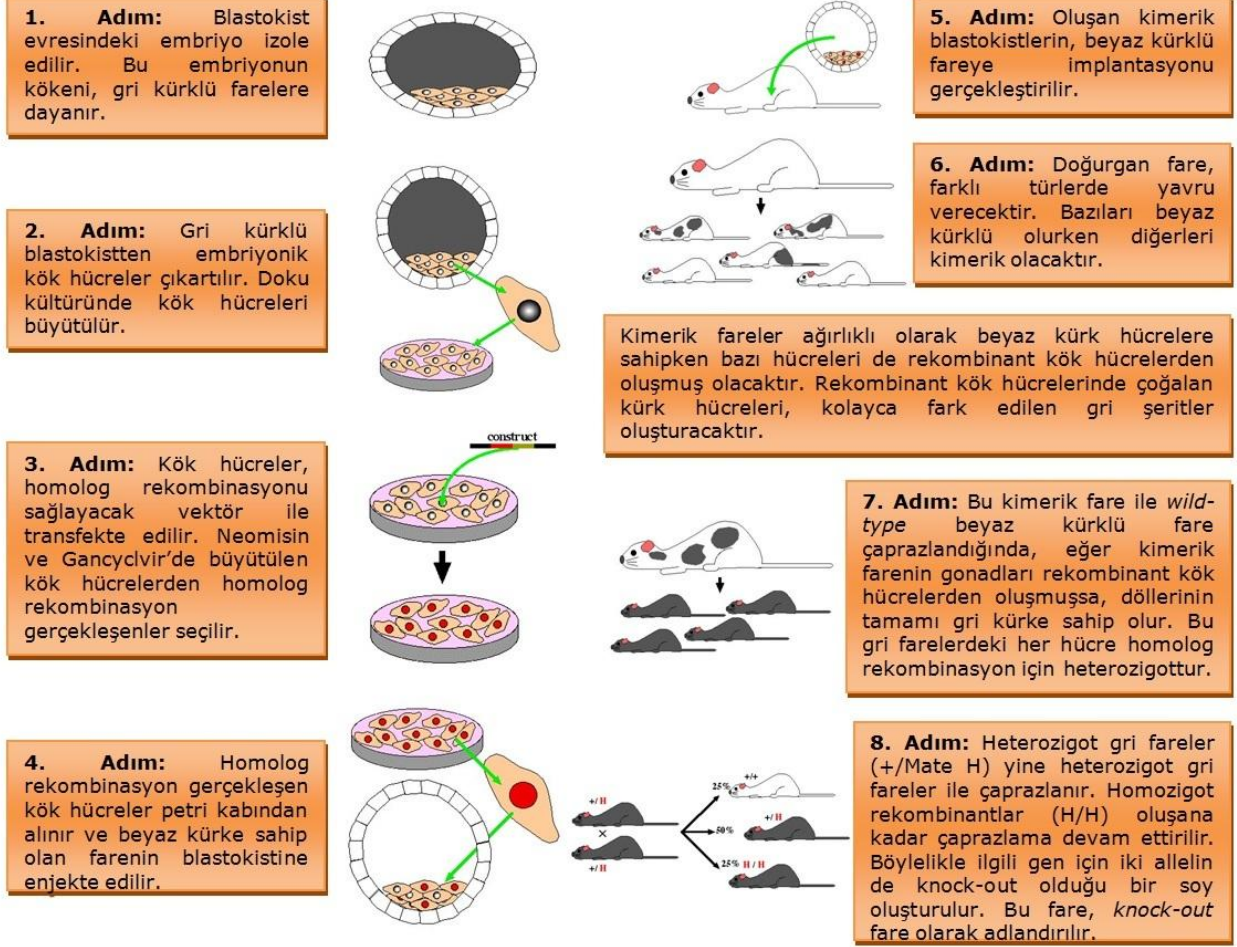
Canlıların içine DNA dizileri entegre edilip rekombinant DNA ve genetik değışime uğramış canlı üretmekte kullanılan pek çoğ yöntem homolog rekombinasyon sürecini kullanır. Gen hedeflemesi olarak da adlandırılan bu yöntemler özellikle maya ve fare genetiğinde kullanılır. *Knock-out* farelerde kullanılan gen hedefleme tekniğinde, yapay genetik malzemenin aktarılması için fare embriyonik köğ hücreleri kullanır. Homolog rekombinasyon yoluyla hedef genin yerine dışardan eklenen gen gelir. Dolayısıyla fare, belli bir memeli geninin etkilerini anlamak için bir model olur⁽¹⁴⁾.

Gen hedefleme teknolojisi sonucunda fare hücrelerinde belli bir genin susturulabileceğı gösterilmiştir. Böylece susturulan genin fizyolojik ve biyolojik önemi ile hastalık durumlarındaki etkilerinin incelenmesi mümkün olabilmiiştir. Örneğın; deneylerde HPRT geni susturulmuştur ve Lesch-Nyhan sendromu ortaya çıkmıştır⁽¹⁵⁾.

Homolog rekombinasyon

Benzer veya aynı dizilere sahip DNA iplikleri arasında nükleotid dizilerinin birbiriyle yer değıştirdiğı bir genetik rekombinasyon tipidir. Homolog rekombinasyon, DNA'daki çift iplikli kırıkların hatasız tamirinde kullanılmanın yanı sıra, mayoz sırasında *Crossing-over* yoluyla yeni DNA kombinasyonlarının oluşumunu da sağılar. DNA'daki yeni bileşimler genetik varyasyonlar oluşturur ve bu varyasyonlar aynı zamanda yararlı olabilecek alel kombinasyonlarıdır⁽¹⁶⁾.

Knock-out fareler ve gen hedeflemesi (16)



Şekil 1. Knock-out fare oluşturulmasına ait akış şeması

Retrovirüsler

RNA genomu taşıyan kapsüllü virüslerdir ve DNA aracılığıyla replike olabilirler. Retrovirüsler, diploid yapıda olan tek RNA virüsüdür. *Ters transkriptaz* enzimi ile RNA-DNA dönüşümü yapabilirler. *Ters transkriptaz*: RNA'nın, çift sarmal yapıdaki DNA'ya çevrilmesini katalize eden enzimdir. Bunun için DNA polimeraz ile beraber RNA'dan bir RNA-DNA hibritleşmesinden oluşmuş çift sarmallı molekül sentezler. Bu molekülden RNA ipliği ayrılır ve DNA kalıp ipliği oluşur. *Ters transkriptaz*, bu kalıp ipliği çift sarmallı DNA'ya tamamlar⁽¹⁷⁾.

Hayvan modelleri ile insan arasındaki benzerlik

Temel biyolojik bilgilerimiz kemirgenler, *C.elegans* ve diğer "basit" organizmalar sayesinde bugünkü seviyesine gelebilmiştir. Fakat insan hastalıkları çok kompleks yapıda olması nedeni ile ancak az sayıda kemirgen modelleri ile bağdaştırılabilir.

Kemirgen modellerinde sinir iltahapları ve diğer yumuşak beyin dokusu patolojilerinde, fare modelinde görülen sinir hastalıkları, genetik yönden insan iltahabını çok az taklit etmektedir. Araştırmacılar çalışmalarında iltahap ve yanmalara karşı genomik (transkripsiyonel) yanıtı, travmayı ve endotoksemyi insana uygun fare modellerinde düzenlemişlerdir. Üç farklı durumun benzer iltahabi yanıtı insanda da tetiklediklerini etiyolojik olarak gösterilmiştir (Örn: Yanma, Travma veya endotoksemi.). Fakat transkripsiyonel yanıtların fare modellerinde insana göre farklı işlediğini tespit etmişlerdir. Ayrıca transkripsiyonel yanıtlar üç farklı fare modelinde bile benzer değil⁽¹⁸⁾.

Gen cevap süreleri birbirine benzer olsa da (6-12 saat) insan ve kemirgende bütün üç durumda da eski hale dönme tamamen farklı tablolar ile izlenmekte: insanda haftadan aylara (hatta yıllara) varan bir süreç gözlenirken uygun kemirgen modelinde bu zaman sadece 10 gün sürmektedir⁽¹⁸⁾.

Bu araştırmaları yürüten Dr. Brenner'ın önerisi ciddi bir biçimde düşünülebilir: "Belki de bir sonraki ve en gelişmiş model sistemi bizim sistemimizdir."

Model hayvanlar ve etik

Hayvanlara etik muamele için mücadele edenler (PETA, People for the Ethical Treatment of Animals)

PETA, bir hayvan hakları organizasyonudur. Tıp alanının hızla geliştiği düşünüldüğünde tıbbi araştırmaların yürütülmesi ve yayınlanması aşamalarında etik kurallara uygun davranılmasının önemli bir zorunluluk olduğu bilinmektedir ⁽¹⁹⁾.

Deneyisel çalışmalarda, hayvan hakları ve etiği esas alınarak insanlığa yararlı bilgiler sağlanması hedeflenmektedir⁽¹²⁾.

SONUÇ

Sonuç olarak araştırmacıların deneyisel çalışmalarında hayvan haklarını ve etiğini esas alarak insanlığa yararlı bilgiler sağlamayı hedeflemesi gerektiği belirtilmektedir ⁽⁸⁾. Bu bilimsel hizmet adına hayvan modellerinin kullanımı yaygın olarak devam etmekte ve buradan elde edilen bilgiler moleküler mekanizmaların ve insan hastalıklarının anlaşılmasında kullanılmaktadır.

KAYNAKÇA

1. http://tr.wikipedia.org/wiki/Model_canlı
2. Kaya M, Çevik A. Hayvan deneylerinde planlanma ve model seçimi. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi. 2011;1(2):36-39.
3. Ma, Chaoyong; Animal Models of Disease, MDD, 2004, 1:30-36.
4. Riddle DL, Blumenthal T, Meyer BJ, et al., editors. C. elegans II. 2nd edition. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1997. Section I, The Biological Model. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20086/>
5. Spitsbergen JM. and Kent ML. The state of the art of the zebrafish model for toxicology and toxicologic pathology research--advantages and current limitations. Toxicol Pathol 2003;31:62-87.
6. Hengartner M.O. Horvitz,H.R. Programmed cell death in *Caenorhabditis elegans*. Curr Opin Genet Develop 1994; 4:581-586.
7. Langheinrich U.Zebrafish: A new model on the pharmaceutical catwalk. Bioessays 2003;25:904-912.
8. Kaya M, Çevik A. Hayvan deneylerinde planlanma ve model seçimi. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi 2011;1(2):36-39
9. Naycı S. Hayvan Çalışmalarında Planlama ve Uygun Model ve Denek Seçimi Nasıl Yapılmalı? Turkish Thoracic Journal 2013;14(2):10-14.
10. Nakamura A, Takeda S, Mammalian Models of Duchenne Muscular Dystrophy: Pathological Characteristics and Therapeutic Applicatons.Journal of Biomedicine and Biotechnology 2011; Article ID 184393, doi.org/10.1155/2011/184393
11. Pickrell AM, Pinto M, Moraes CT.Mouse models of Parkinson's disease associated with mitochondrial dysfunction. Mol Cell Neurosci. 2013;55:87-94.
12. Mehmet Kaya, Hayvan Deneylerinde Planlama ve Model Seçimi. , 2010, 1:1-53
13. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, et al. Molecular Cell Biology. 4th edition. New York: W. H. Freeman; 2000. Section 8.5, Gene Replacement and Transgenic Animals. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21632/>
14. http://tr.wikipedia.org/wiki/Homolog_rekombinasyon
15. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.*Molecular Biology of the Cell* (4. bas.). DNA Replication, Repair, and Recombination. Chapter 5. New York: GarlandScience, 2002. ISBN0-8153-3218-1.
16. <http://www.bio.davidson.edu/genomics/method/homolrecomb.html#KO>
17. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Retrovir%C3%BCs>
18. Agoston DV. Of Timescales, Animal Models, and Human Disease: The 50th Anniversary of C. elegans as a Biological Model. Front Neurol. 2013; 4: 129.
19. Çobanoğlu N, Eda Yılmaz O.Tıbbi Bilimsel Yayınlarda Etik Kurullar ve Kurallar. Sağlık Bilimlerinde Süreli Yayıncılık. TÜBİTAK. 2007;3: 444-458