

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

Η επιλογή του κατάλληλου «τελικού σημείου» (endpoint) στα πειράματα όπου χρησιμοποιούνται ζώα

Η χρήση ζώων για πειραματικούς σκοπούς αποτελεί έναν ευαίσθητο τομέα της βιοϊατρικής έρευνας και συχνά εγείρει ηθικά διλήμματα. Η εθνική και η ευρωπαϊκή νομοθεσία καθορίζουν πλέον αυστηρούς κανόνες που διέπουν κάθε ερευνητική πράξη στην οποία εμπλέκονται ζώα. Κατά τη διάρκεια των πειραματισμών μπορεί να εμφανιστεί πόνος ή ταλαιπωρία ή να απαιτείται η θανάτωση των ζώων. Είναι απαραίτητο να καθοριστεί το σημείο εκείνο πέρα από το οποίο δεν δικαιολογείται οποιαδήποτε ταλαιπωρία ή πόνος και στο οποίο θα πρέπει να τερματιστεί ο πειραματισμός ή να διενεργηθεί ευθανασία. Ο καθορισμός αλλά και η εκτίμηση των τελικών σημείων αποτελεί δύσκολη διαδικασία και βασίζεται σε επιστημονικούς και ηθικούς κανόνες. Πρωταρχικής σημασίας είναι η παρακολούθηση των πειραματοζώων, καθώς επίσης η αναγνώριση και η αξιολόγηση μεταβολών της φυσιολογικής τους συμπεριφοράς. Η διενέργεια ενός προκαταρκτικού πειράματος θεωρείται ιδιαίτερα χρήσιμη, καθώς πληροφορεί για τυχόν επιπλοκές και ανεπιθύμητες καταστάσεις, αλλά και για τα αναμενόμενα αποτελέσματα. Ο καθορισμός των διοικητικά και επιστημονικά υπευθύνων για τον πειραματισμό αποτελεί βασικό συστατικό κάθε ερευνητικής προσπάθειας και θέτει τις βάσεις για την ομαλή εξέλιξη του πειραματισμού. Πολύ σημαντική είναι η εκπαίδευση του προσωπικού που εμπλέκεται στον πειραματισμό, το οποίο θα είναι υπεύθυνο για τη φροντίδα των ζώων. Η χρήση ζώων για επιστημονικούς σκοπούς δικαιολογείται μόνο από την αναμενόμενη ωφέλεια του ανθρώπου ή των ζώων, και σε κάθε περίπτωση μόνο εφόσον δεν υπάρχουν άλλες εναλλακτικές λύσεις. Όταν χρησιμοποιούνται ζώα για πειράματα, αυτά θα πρέπει να υφίστανται το μικρότερο δυνατό βαθμό πόνου και ταλαιπωρίας, ενώ θα πρέπει πάντα να γίνεται προσπάθεια μείωσης του αριθμού τους. Ο καθορισμός τελικών σημείων συμβάλλει ουσιαστικά στη διενέργεια πειραματισμών με ανθρωπιστικούς όρους.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η χρήση πειραματοζώων στη βιοϊατρική έρευνα είναι ένα ιδιαίτερα ευαίσθητο θέμα, με κοινωνικές και ηθικές προεκτάσεις. Καθώς η ευαισθησία της κοινής γνώμης αυξάνεται, η ανάγκη για αυστηρότερους κανόνες χρήσης και διαχείρισης των πειραματοζώων καθίσταται εντονότερη. Η χρήση πειραματοζώων στη χώρα μας διέπεται από (α) το Προεδρικό Διάταγμα 160/1991 και το Νόμο 2015/1992, που εναρμονίζουν την εθνική νομοθεσία με την Οδηγία 86/609/ΕΟΚ του Συμβουλίου για την προσέγγιση των νομοθετικών, κανονιστικών και διοικητικών διατάξεων των κρατών-μελών σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς και άλλους επιστη-

μονικούς σκοπούς και (β) τη Σύσταση της Επιτροπής, της 18ης Ιουνίου 2007, σχετικά με τη χάραξη κατευθύνσεων για την παροχή στέγης και φροντίδας στα ζώα που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς και άλλους επιστημονικούς σκοπούς [κοινοποιηθείσα υπό τον αριθμό Ε(2007) 2525 (2007/526/ΕΚ)]. Το γενικό πνεύμα του νομοθέτη είναι ότι η χρήση πειραματοζώων μπορεί να δικαιολογηθεί όταν οι στόχοι της έρευνας είναι σημαντικοί και η επίτευξή τους θεωρείται πιθανή ή δυνατή, όταν δεν υπάρχουν εναλλακτικές λύσεις που να μην περιλαμβάνουν τη χρήση ζώων με αισθήσεις και αντίληψη, και όταν η ταλαιπωρία των ζώων ελαχιστοποιείται, καθώς και ότι οι πειραματισμοί σε ζώα πρέπει να διενεργούνται με φροντίδα, συμπόνια και σεβασμό προς μια ανώτερη εξελικτικά μορφή ζωής,

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2009, 26(6):778-786
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2009, 26(6):778-786

Ι. Σάββας,
Τ. Αναγνώστου,
Γ. Καζάκος

Μονάδα Αναισθησιολογίας και
Εντατικής Θεραπείας, Κλινική
Ζώων Συντροφιάς, Κτηνιατρική
Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο
Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Choosing an appropriate endpoint
in experiments using animals

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Πειραματοζώα
Τελικό σημείο

Υποβλήθηκε 8.1.2009
Εγκρίθηκε 28.1.2009

προς όφελος του ανθρώπου και των ζώων. Σύμφωνα με το νομοθετικό αυτό πλαίσιο, για τη χορήγηση άδειας πειραματισμού υποβάλλεται αίτηση στην αρμόδια Διεύθυνση Κτηνιατρικής της οικείας Νομαρχίας, όπου αναλύονται, μεταξύ άλλων, οι λόγοι χρήσης πειραματοζώων, οι συνθήκες πειραματισμού, οι συνθήκες διαβίωσής τους και ο τρόπος θανάτωσής τους, και δηλώνεται το πειραματικό κέντρο στο οποίο θα διεξαχθεί ο πειραματισμός (το οποίο απαιτεί ειδική αδειοδότηση). Με τη χορήγηση της άδειας, διάρκειας ενός έτους με δυνατότητα ανανέωσης, ορίζεται ένας υπεύθυνος πειραματισμού και ένας υπεύθυνος κτηνίατρος.

Η βελτίωση των πειραματικών μεθόδων και η τροποποίηση των πειραματικών μοντέλων που εφαρμόζονται όταν χρησιμοποιούνται ζώα στη βιοϊατρική έρευνα ή τη διδασκαλία αποτελεί ανάγκη και υποχρέωση των ερευνητών. Απαραίτητη προϋπόθεση κάθε πειραματισμού είναι πλέον η ελαχιστοποίηση του πόνου και της ταλαιπωρίας των πειραματοζώων. Ως γενική αρχή, οι ερευνητές πρέπει να ακολουθούν τον «κανόνα των τριών R» (“3Rs”):¹ Replacement (αντικατάσταση των ζώων με άλλα υλικά χωρίς αισθήσεις ή με ζώα χαμηλής αισθητικότητας), reduction (μείωση του αριθμού των ζώων που θα χρησιμοποιηθούν) και refinement (εκλέπτυνση και βελτίωση των διαφόρων τεχνικών, ώστε να ελαχιστοποιηθεί στο απολύτως αναπόφευκτο η καταπόνηση που υφίστανται τα πειραματόζωα που χρησιμοποιούνται). Ο «κανόνας των τριών R» έχει προταθεί ως μέσο μείωσης ή εξάλειψης της άμεσης ή/και της έμμεσης καταπόνησης και ταλαιπωρίας των πειραματοζώων και έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη «εναλλακτικών λύσεων και μέσων». Οι εναλλακτικές αυτές ορίζονται ως «οι τεχνικές και οι διαδικασίες που μπορούν να αντικαταστήσουν την ανάγκη για διενέργεια πειραμάτων σε ζώα, να μειώσουν τον αριθμό των πειραματοζώων που απαιτούνται ή να μειώσουν τον πόνο ή/και την καταπόνηση που υφίστανται τα πειραματόζωα, με σκοπό την ικανοποίηση των αναγκών του ανθρώπου και των ζώων».²

Στο παρελθόν, σε αρκετά ερευνητικά πεδία, ο θάνατος των πειραματοζώων αποτελούσε καταληκτικό σημείο. Σήμερα όμως αμφισβητείται αυτή η απαίτηση. Τέτοια πεδία είναι η Τοξικολογία (διαγνωστική Τοξικολογία, αλλά και μελέτες οξείας τοξικότητας), η Μικροβιολογία (μελέτες παθογόνου δράσης μικροοργανισμών), η έρευνα αποδοτικότητας των εμβολίων, η έρευνα για τον καρκίνο και οι μελέτες εκτίμησης της αποδοτικότητας των αντικαρκινικών θεραπευτικών πρωτοκόλλων. Σε κάποιες ερευνητικές εργασίες, ο πόνος και/ή η καταπόνηση των πειραματοζώων είναι μια ανεπιθύμητη, αλλά αναπόφευκτη συνέπεια της νόσου ή της παραμέτρου που μελετάται (π.χ. πειραματικά μοντέλα νοσημάτων του ανθρώπου, όπως ρευματοειδής

αρθρίτιδα ή καρκίνος), ενώ σε άλλες εμφανίζεται ως αποτέλεσμα κάποιας χρήσης των πειραματοζώων (π.χ. παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων).^{3,4}

Ως «τελικό σημείο» (endpoint) ορίζεται το σημείο εκείνο στο οποίο κρίνεται ότι ο πόνος ή/και η αγωνία ενός πειραματοζώου πρέπει να εξαιρεθθούν ή να ελαχιστοποιηθούν, είτε θανατώνοντας το ζώο με ανθρωπιστικό τρόπο (ευθανασία), είτε τερματίζοντας την επώδυνη διαδικασία, είτε χορηγώντας του θεραπεία για την ανακούφιση από τον πόνο και την αγωνία.^{4,5}

Τα τελικά σημεία καθορίζονται με βάση επιστημονικούς και ηθικούς κανόνες, καθώς και κανόνες ευζωίας (welfare) των πειραματοζώων και πρέπει να βρίσκουν εφαρμογή στις ακόλουθες περιστάσεις:⁶

- Όταν οι επιστημονικοί στόχοι της έρευνας έχουν πραγματοποιηθεί, αλλά και όταν γίνεται κατανοητό ότι οι στόχοι αυτοί δεν είναι δυνατόν να επιτευχθούν, ακόμη και αν δεν συντρέχουν άμεσα προβλήματα ευζωίας.
- Όταν τα πειραματόζωα υφίστανται πόνο ή/και καταπόνηση ή/και βλάβη ή υποφέρουν πέρα από τα όρια που δικαιολογούνται ή απαιτούνται από το συγκεκριμένο πείραμα. Τέτοια τελικά σημεία πρέπει να βρίσκουν εφαρμογή και σε περιπτώσεις μικρού βαθμού καταπόνησης των ζώων και όχι μόνον όταν τα πειραματόζωα είναι σχεδόν ετοιμοθάνατα.
- Όταν κάποιο, μη αναμενόμενο, γεγονός έχει διακυβεύσει τα αποτελέσματα της έρευνας, ακόμη κι αν το γεγονός αυτό δεν έχει επηρεάσει σοβαρά την ευζωία των πειραματοζώων.

Εύλογα, όμως, τίθενται κάποια ερωτήματα:

- Πώς μπορεί να επιλεγεί το κατάλληλο τελικό σημείο που να πληροί αυτές τις αρχές;
- Πώς μπορούν να τροποποιηθούν τα πειραματικά πρωτόκολλα, ώστε να εφαρμόζονται περισσότερο ανθρωπιστικά τελικά σημεία, ειδικά στις περιπτώσεις εκείνες όπου στο παρελθόν επέλεγαν το θάνατο ως καταληκτικό σημείο;
- Πού ακριβώς πρέπει να χαραχθεί η διαχωριστική γραμμή;

Ένας γενικός κανόνας είναι ο εξής: Στους πειραματισμούς με ζώα, πρέπει να καταβάλλεται προσπάθεια ώστε να ελαχιστοποιείται ο πόνος ή/και η καταπόνηση που υφίστανται τα πειραματόζωα, με την επιλογή του πλέον πρώιμου δυνατού τελικού σημείου, το οποίο θα είναι συμβατό με τους επιστημονικούς στόχους της έρευνας. Η επιλογή αυτού του τελικού σημείου από τον ερευνητή πρέπει να γίνεται με

την καθοδήγηση του ειδικού κτηνιάτρου πειραματοζώων –υπεύθυνος κτηνίατρος πειραματισμού, σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία– και της επιτροπής προστασίας των ζώων (όταν και όπου αυτή υπάρχει).^{3,4}

2. ΟΔΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΤΟΥ ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΥ ΤΕΛΙΚΟΥ ΣΗΜΕΙΟΥ

Είναι σχετικά εύκολο να διαγνωστεί η προθανάτια κατάσταση ενός πειραματοζώου. Ένα τέτοιο ζώο είναι πολύ πιθανόν να βρίσκεται σε κωματώδη κατάσταση ή να μην αντιδρά σε εξωτερικά ερεθίσματα. Επίσης, συνήθως παρατηρούνται δύσπνοια ή άλλα σοβαρά αναπνευστικά προβλήματα, υποθερμία, πλήρης σωματική εξάντληση κ.λπ. Βέβαια, ένα ετοιμοθάνατο ζώο ενδέχεται να μην υποφέρει πλέον. Είναι αυτονόητο ότι πρέπει να οριστεί ένα τελικό σημείο, ώστε να τερματιστεί η ταλαιπωρία του ζώου πριν αυτό φθάσει σε τέτοια προθανάτια κατάσταση.^{4,7}

Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι επιλογής του κατάλληλου τελικού σημείου για έναν πειραματισμό. Όλες στηρίζονται στον αντικειμενικό καθορισμό οποιασδήποτε παρέκκλισης του ζώου από τη φυσιολογική του κατάσταση και τον επακόλουθο συσχετισμό αυτών των αλλαγών με «βαθμούς» καταπόνησης.

Η επιλογή του κατάλληλου τελικού σημείου με ανθρωπιστικά κριτήρια βασίζεται στα παρακάτω:⁴

- Προσεκτικής παρακολούθηση των ζώων, με ιδιαίτερη έμφαση στη συμπεριφορά τους και σε συγκεκριμένες φυσιολογικές παραμέτρους
- Προσδιορισμός αντικειμενικών τιμών για τις διάφορες παραμέτρους από την παρατήρηση της συμπεριφοράς και της φυσιολογίας των ζώων
- Καθορισμός των παραμέτρων εκείνων που η μεταβολή τους αποτελεί σημαντική ένδειξη πόνου ή/και καταπόνησης των ζώων, στις συγκεκριμένες συνθήκες της έρευνας
- Καθορισμός των παραμέτρων εκείνων που η μεταβολή τους επιτρέπει την αξιόπιστη πρόβλεψη περαιτέρω επιδείνωσης της κατάστασης των ζώων
- Καθορισμός του πλέον πρώιμου σημείου στο οποίο εμφανίζονται αυτά τα συμπτώματα της επιδείνωσης
- Συμμόρφωσης με τις επιστημονικές απαιτήσεις για ένα αντικειμενικά καθορισμένο τελικό σημείο
- Σαφή καθορισμός των πληροφοριών που αναζητούνται στον πειραματισμό.

2.1. Παρακολούθηση των ζώων

Οι Morton και Griffiths⁸ έθεσαν τα θεμέλια για την ανάπτυξη μεθόδων αντικειμενικής εκτίμησης του πόνου ή/και της καταπόνησης των πειραματοζώων. Ο ποσοτικός προσδιορισμός του πόνου, που πρότειναν αυτοί οι ερευνητές, βασιζόταν στην εκτίμηση πέντε σημείων της φυσικής κατάστασης των ζώων:

- Μεταβολές στο σωματικό βάρος (και συνδεόμενες μεταβολές στη λήψη τροφής και νερού)
- Εμφάνιση του ζώου
- Μετρήσιμες φυσιολογικές παράμετροι (π.χ. μεταβολές στη συχνότητα των καρδιακών παλμών και των αναπνοών, αλλά και στη φύση τους)
- Μεταβολές στην απρόκλητη συμπεριφορά
- Αντιδράσεις σε εξωτερικά ερεθίσματα.

Για καθεμιά από τις παραπάνω ομάδες παραμέτρων προτάθηκε μια κλίμακα βαθμολόγησης από το 0 (φυσιολογικό ή ήπια μεταβολή) έως το 3 (σοβαρές αποκλίσεις από το φυσιολογικό). Η αθροιστική βαθμολογία που προκύπτει από όλες τις κατηγορίες καταδεικνύει το βαθμό απόκλισης του ζώου από τη φυσιολογική κατάσταση- μεγάλη απόκλιση μπορεί να ερμηνευτεί ως ένδειξη πόνου ή/και καταπόνησης. Έτσι, ένα συγκεκριμένο άθροισμα μπορεί να θεωρηθεί ότι θα αντιπροσωπεύει το σημείο στο οποίο θα τερματίζεται ή θα ανακουφίζεται ο πόνος ή/και η καταπόνηση του ζώου. Ωστόσο, οι παραπάνω προτεινόμενες παράμετροι είναι μόνο μερικές από αυτές που ίσως απαιτούνται για τον καθορισμό ενός τελικού σημείου σε συγκεκριμένα ερευνητικά πρωτόκολλα.

Εκτός από τις παραπάνω κλινικές μετρήσεις, έχει υποστηριχθεί ότι τα επίπεδα διαφόρων ορμονών (κατεχολαμίνες, κορτικοστεροειδή, προλακτίνη) ή άλλων βιοχημικών παραμέτρων (π.χ. TNF, ιντερλευκίνες) μπορεί να αποτελούν δείκτη της καταπόνησης των ζώων. Παρόλα αυτά, δεν υπάρχει ομοφωνία για το ποιες από τις πολλές πιθανές ορμονικές μεταβολές μπορεί πραγματικά να αντιπροσωπεύουν καταπόνηση ή πόνο. Υπάρχουν όμως πολλές ενδείξεις –από μελέτες κυρίως στον άνθρωπο– ότι οι μεταβολές των βιοχημικών παραμέτρων μπορεί να μην αποτελούν αντικειμενική μέθοδο αξιολόγησης του πόνου. Ενδεχομένως να πρόκειται απλά για μια μη ειδική αντίδραση στο stress. Εξάλλου, η χορήγηση αναισθησίας και η πραγματοποίηση μιας ανώδυνης χειρουργικής πράξης μπορούν από μόνες τους να μεταβάλλουν πολλές από αυτές τις παραμέτρους, ακόμη και σε ασθενείς χωρίς πόνο. Ωστόσο, εάν η δειγ-

ματοληψία αίματος αποτελεί μέρος του ερευνητικού πρωτοκόλλου, ο ερευνητής θα μπορούσε να προχωρήσει και στη μέτρηση κάποιων «δεικτών καταπόνησης». Βέβαια, ο ερευνητής πρέπει να γνωρίζει ότι η αιμοληψία από μόνη της μπορεί να προκαλέσει αύξηση των τιμών αυτών των παραμέτρων. Τελικά, τα αποτελέσματα ίσως αποτελέσουν πολύτιμη προσθήκη στα δεδομένα και μπορεί να οδηγήσουν σε συσχέτιση με τις παρατηρούμενες μεταβολές της συμπεριφοράς των ζώων.^{4,9}

Ιδιαίτερης σημασίας είναι η γνώση της χαρακτηριστικής συμπεριφοράς των διαφόρων ειδών ζώων. Ζώα, όπως πρωτεύοντα θηλαστικά εκτός του ανθρώπου, τρωκτικά, τα κουνέλια και μερικά είδη παραγωγικών ζώων, μπορεί να μην εκδηλώνουν σημαντικές μεταβολές της συμπεριφοράς τους ακόμη κι όταν υφίστανται έντονο πόνο. Επομένως, ο ερευνητής πρέπει να γνωρίζει την ιδιαίτερη συμπεριφορά του ζωικού είδους με το οποίο ασχολείται, πριν καταλήξει στην επιλογή των τελικών σημείων. Όμως, η σωστή ερμηνεία των διαφόρων μεταβολών στη συμπεριφορά ενός ζώου προϋποθέτει τη γνώση της φυσιολογικής συμπεριφοράς, όχι μόνο των ζώων του ίδιου είδους, ηλικίας και φύλου, αλλά και του συγκεκριμένου ζώου. Για να επιτευχθεί αυτό, είναι απαραίτητη η καλή συνεννόηση και συνεργασία του ερευνητή με τον κτηνίατρο και το προσωπικό που περιποιείται τα πειραματόζωα. Επίσης, πρέπει να θεωρείται δεδομένο ότι εκείνοι που ασχολούνται με την περιποίηση των ζώων είναι οι πλέον κατάλληλοι να αναγνωρίσουν ενδεχόμενες μεταβολές στη συμπεριφορά τους και μάλιστα νωρίτερα από οποιονδήποτε άλλον, όταν οι μεταβολές είναι ακόμα ήπιες. Για παράδειγμα, ζώα ήρεμης ιδιοσυγκρασίας, όταν πονούν μπορεί να εμφανίζονται ανήσυχα, να κινούνται συνεχώς ή να γίνονται επιθετικά. Αντίθετα, ζώα κατά τα άλλα ενεργητικά, όταν πονούν μπορεί να κάθονται ακίνητα σε μια γωνιά του κλουβιού τους και να εμφανίζονται απαθή.^{4,10}

Στην πράξη, ένα πειραματόζωο πρέπει πρώτα να παρατηρείται προσεκτικά από απόσταση, χωρίς να ενοχληθεί. Εκτιμάται η εξωτερική του εμφάνιση, η θέση και η στάση του στο χώρο και προσδιορίζεται αν η συμπεριφορά του είναι φυσιολογική ή όχι. Επίσης, ελέγχεται η αντίδραση του ζώου σε ένα εξωτερικό ερέθισμα (π.χ. θόρυβος, αλλαγή στην ένταση του φωτισμού), πριν πλησιάσουμε το κλουβί για να χειριστούμε το ζώο. Στη συνέχεια, το ζώο συγκρατείται κατάλληλα – ανάλογα με το είδος – για κλινική εξέταση. Κατά τη διάρκεια της κλινικής εξέτασης, σημειώνονται ενδεχόμενα ευρήματα, λαμβάνονται διάφορες μετρήσεις (περιλαμβανομένου του σωματικού βάρους), εκτιμάται οποιαδήποτε αλλοίωση, κάκωση ή ανωμαλία (π.χ. μέγεθος του όγκου, σε μελέτες του καρκίνου). Τέλος, ίσως αξίζει να σημειωθούν συγκεκριμένες αντιδράσεις

του ζώου στα ερεθίσματα στα οποία υποβάλλεται, όπως η συγκράτηση για την κλινική εξέταση.^{4,10}

Η χρήση «καταλόγου παρατηρήσεων» κατά την εξέταση ενός ζώου, με σκοπό τη βαθμολόγηση της κατάστασής του, βοηθά στον αντικειμενικότερο διαχωρισμό των ζώων που έχουν φθάσει στο τελικό σημείο. Πλεονέκτημα της χρήσης αυτού του καταλόγου αποτελεί το γεγονός ότι οι συγκεκριμένες παράμετροι που βαθμολογούνται δεν παραβλέπονται. Επιπλέον, ένας τέτοιος κατάλογος ελέγχου βοηθά στη βελτίωση της ικανότητας παρατήρησης, ιδίως στα μικρόσωμα είδη πειραματοζώων, στα οποία δεν μπορούν εύκολα να ληφθούν κάποιες κλινικές μετρήσεις (π.χ. θερμοκρασία, καρδιακή και αναπνευστική συχνότητα). Όμως, η λίστα παρατηρήσεων δεν μπορεί να καλύψει όλα τα πιθανά ευρήματα ή τις ανωμαλίες και επομένως αποτελεί απλά ένα χρήσιμο εργαλείο για την καταγραφή συγκεκριμένων πληροφοριών και, επιπλέον, δεν μπορεί να αντικαταστήσει μια λεπτομερή κλινική εξέταση του ζώου.⁴

Η χρήση καταλόγου παρατηρήσεων προσφέρει τα ακόλουθα πλεονεκτήματα:

- Στενότερη παρακολούθηση των ζώων από όλους όσους εμπλέκονται στον πειραματισμό σε κρίσιμες για τα ζώα χρονικές στιγμές ή περιόδους, καθώς ο κατάλογος υποδεικνύει τις χρονικές αυτές περιόδους
- Αποφεύγεται, κατά το δυνατόν, η υποκειμενική αξιολόγηση του πόνου ή και της καταπόνησης, επειδή δίνεται η δυνατότητα στο προσωπικό που φροντίζει τα ζώα και στους επιστημονικά υπεύθυνους του πειραματισμού να καταδείξουν γιατί ένα ζώο «δεν είναι καλά» ή «δεν έχει φυσιολογική συμπεριφορά» με βάση τα κλινικά σημεία
- Η συνέπεια στην αξιολόγηση και τη βαθμολόγηση με βάση τη λίστα αυξάνεται, γιατί οι κατευθυντήριες οδηγίες είναι σαφείς και οι επιλογές για τη βαθμολόγηση είναι περιορισμένες
- Μεμονωμένα κλινικά σημεία ή συνδυασμός σημείων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αναγνώριση και την αξιολόγηση της σοβαρότητας μιας πειραματικής διαδικασίας ως προς τις συνέπειές της στα πειραματόζωα
- Μεμονωμένα κλινικά σημεία ή συνδυασμός σημείων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αναγνώριση του κατάλληλου χρόνου για δειγματοληψία (π.χ. αιμοληψία) κατά τη διάρκεια ενός πειραματικού πρωτοκόλλου
- Βοηθάει στην εκτίμηση της αποτελεσματικότητας οποιασδήποτε θεραπείας αποσκοπεί στην ανακούφιση των ζώων από ανεπιθύμητες επιδράσεις λόγω του πειραματισμού

- Βοηθάει στην αναγνώριση των πειραματικών μοντέλων και συνθηκών που προκαλούν στα πειραματοζώα λιγότερο πόνο ή/και καταπόνηση (π.χ. με σύγκριση μεταξύ εναλλακτικών μοντέλων πειραματοζώων), έτσι ώστε να βελτιωθούν και να εκλεπτυνθούν οι συνθήκες διεξαγωγής των πειραματισμών
- Βοηθάει στην εκπαίδευση όσων δεν έχουν εμπειρία στην εκτίμηση και την αξιολόγηση των ανεπιθύμητων επιδράσεων στα ζώα ή δεν έχουν γενικότερη εμπειρία στη διενέργεια του συγκεκριμένου πειραματισμού
- Μπορούν να αναλυθούν αναδρομικά, για να εκτιμηθούν οι ανεπιθύμητες επιδράσεις του πειραματισμού στα ζώα και η σοβαρότητά τους
- Θεωρείται ότι συμβάλλουν στην επιστημονική αξία ενός πειραματισμού, καθώς εξασφαλίζουν τη διενέργεια περισσότερο προσεκτικής παρατήρησης των πειραματοζώων.

Εκτός από τα γενικά συμπτώματα του πόνου, μπορεί να υπάρχουν και ειδικά συμπτώματα, τα οποία να σχετίζονται με την κατάσταση που μελετάται. Για τα περισσότερα πειραματικά μοντέλα, είναι διαθέσιμες, από τη συγκριτική ιατρική και τη γενική κτηνιατρική βιβλιογραφία, πληροφορίες για τα προσβεβλημένα συστήματα οργάνων, τα ειδικά συμπτώματα της εν λόγω νόσου, την εξέλιξη των συμπτωμάτων, τη χρονική πορεία εξέλιξης της νόσου και τις αναμενόμενες αλλοιώσεις. Τέτοια ειδικά συμπτώματα πρέπει, επίσης, να χρησιμοποιούνται στη συνολική εκτίμηση της κατάστασης των ζώων.

Τα αποτελέσματα ερευνητικών εργασιών που ίσως ήδη υπάρχουν για το θέμα που μελετάται, καθώς και οι πληροφορίες σχετικά με τη φαρμακολογία ή τη χημεία ουσιών που δοκιμάζονται, πρέπει να χρησιμοποιούνται στην προσπάθεια πρόβλεψης πιθανών δυσμενών συνεπειών στα ζώα. Εξυπακούεται η αναγκαιότητα διεξαγωγής μιας ολοκληρωμένης βιβλιογραφικής αναζήτησης.^{4,11}

2.2. Αξιολόγηση των φυσιολογικών παραμέτρων

Από τα συμπτώματα που εμφανίζουν τα ζώα τα οποία πονούν, η σημαντική απώλεια βάρους ίσως είναι μια από τις σοβαρότερες ενδείξεις επιδείνωσης της κατάστασής τους (δηλώνει μειωμένη κατανάλωση τροφής και νερού). Η απώλεια σωματικού βάρους, σε πειραματικές συνθήκες, πρέπει πάντα να συγκρίνεται με κατάλληλο πειραματοζωομάρτυρα που διαβιεί κάτω από τις ίδιες συνθήκες.

Σε διαφορετικά πειραματικά πρωτόκολλα μπορεί να είναι τελείως διαφορετικές οι φυσιολογικές παράμετροι, στις οποίες η απόκλιση από το φυσιολογικό θα πρέπει να

αξιολογηθεί και βαθμολογηθεί, έτσι ώστε δεδομένη απόκλιση από το φυσιολογικό να θεωρείται τελικό σημείο. Για παράδειγμα, σε πειράματα αποτελεσματικότητας για παρτίδες εμβολίων λύσσας που περιελάμβαναν το θάνατο μυών ως απόδειξη λοίμωξης (με δοκιμαστικό χρόνο επιβίωσης 14 ημερών),¹² το τελικό σημείο της απώλειας βάρους >15% σε συνδυασμό με εκδήλωση αργών κυκλικών κινήσεων –ή κάποιο μετέπειτα στάδιο, αν το συγκεκριμένο στάδιο των κυκλικών κινήσεων ξεπεράστηκε πολύ γρήγορα για να παρατηρηθεί– θα μπορούσε να είχε χρησιμοποιηθεί επιτυχώς ως ένα ανθρωπιστικό τελικό σημείο. Η χρήση αυτού του τελικού σημείου θα μείωνε τη διάρκεια του πειραματισμού κατά 77,7 ώρες, κατά μέσον όρο, για κάθε ζώο που πέθανε τελικά.

Η υποθερμία μπορεί επίσης να είναι ένας σημαντικός δείκτης επιδείνωσης της κατάστασης του ζώου, όταν εμφανίζεται κατά τη διαδρομή συγκεκριμένων νόσων ή τοξικών καταστάσεων. Έχει βρεθεί ότι η μείωση της θερμοκρασίας του σώματος (<32 °C) στους προσβεβλημένους από τον ιό της γρίπης μυς ήταν σημείο που επέτρεπε να προβλεφθεί η κατάληξη των ζώων,¹³ καθώς και ότι σε προσβεβλημένους από βακτήρια μυς η υποθερμία (<34 °C) αποτελούσε επίσης στοιχείο πρόβλεψης θανάτου των ζώων.¹⁴ Έτσι, σε συγκεκριμένες πειραματικές μελέτες, το σημείο στο οποίο η θερμοκρασία του σώματος –ή κάποια άλλη φυσιολογική παράμετρος– ενός πειραματοζώου μειώνεται κάτω από μια ορισμένη τιμή (ή μεταβάλλεται κατά συγκεκριμένο τρόπο) θα μπορούσε να τεθεί ως το τελικό σημείο στο οποίο συνιστάται ευθανασία.^{4,11}

2.3. Αναγνώριση μεταβολών της συμπεριφοράς που είναι ενδεικτικές πόνου

Για κάθε πειραματικό μοντέλο, θα μπορούσαν να γίνουν πολλές και διάφορες μετρήσεις ή παρατηρήσεις, προκειμένου να αποσαφηνιστεί αν και κατά πόσο τα πειραματοζώα πονούν ή/και καταπονούνται. Δεν είναι εύκολος, λοιπόν, ο καθορισμός των πλέον αξιόπιστων δεικτών της κατάστασης του ζώου. Ακόμη πιο σημαντικός, από την οπτική γωνία του ερευνητή, ίσως να είναι ο καθορισμός των πλέον αξιόπιστων δεικτών της μη αναστρέψιμης επιδείνωσης της κατάστασης του ζώου.

Για παράδειγμα, σε συγκεκριμένα πειραματικά μοντέλα πρόκλησης αρθρίτιδας σε μυς, μολονότι βρέθηκαν αλλαγές στη συχνότητα εκδήλωσης διαφόρων τύπων συμπεριφοράς (μείωση της ανόρθωσης και στήριξης στα οπίσθια άκρα, του τρεξίματος, της πρόσληψης φαγητού και νερού, της αναρρίχησης ή αύξηση της ανάπαυσης και του κνησμού), το συμπέρασμα ήταν ότι από όλες αυτές τις αλλαγές συμπεριφοράς του ζώου η αύξηση του κνησμού

ήταν η πλέον σημαντική εκδήλωση που συνδέεται με την ανάπτυξη της αρθρίτιδας, υποδηλώνοντας χρόνιο πόνο.^{15,16} Σε έναν άλλο πειραματισμό, σε επίμους στους οποίους είχαν εμφυτευτεί κύτταρα καρκινικής κυτταρικής σειράς στην ουροδόχο κύστη, εκτιμήθηκε η αποτελεσματικότητα των αναλγητικών καρπροφαίνη και μελοξικάμη στην καταπολέμηση του πόνου που μπορεί να υφίσταντο τα ζώα λόγω της ανάπτυξης του όγκου. Στα ζώα που δεν έλαβαν αναλγητικά (ομάδα μαρτύρων) διαπιστώθηκε αυξημένη συχνότητα λείξης της κοιλιακής χώρας, κάτι που δεν παρατηρήθηκε στους επίμους που έλαβαν αναλγητικά. Οι ερευνητές συμπέραναν ότι η χορήγηση αναλγητικών ωφέλησε τα ζώα, αν και δεν ήταν δυνατόν να διαπιστωθεί σε ποιο βαθμό.¹⁷

Αυτού του είδους οι εκτιμήσεις της συμπεριφοράς των ζώων αποτελούν αντικείμενα έρευνας από μόνα τους, που απαιτούν πολλές ώρες παρατήρησης και ειδικό εξοπλισμό. Ίσως είναι υπερβολικό να απαιτείται μια τέτοιου είδους προκαταρκτική εκτίμηση κάθε φορά που αρχίζει ένα ερευνητικό πρόγραμμα με πειραματόζωα, στο οποίο υπάρχει η πιθανότητα πρόκλησης πόνου ή/και καταπόνησης στα ζώα. Ωστόσο, η διεξαγωγή μιας δοκιμαστικής μελέτης (pilot study), η οποία θα επιτρέψει την επιλογή των κριτηρίων που θα χρησιμοποιηθούν στον καθορισμό των τελικών σημείων στον κυρίως πειραματισμό, συνήθως αποδεικνύεται ιδιαίτερα χρήσιμη.⁴

2.4. Προκαταρκτικά πειράματα για τον καθορισμό του τελικού σημείου

Επειδή τα κλινικά συμπτώματα που δείχνουν πόνο ή/και καταπόνηση διαφέρουν μεταξύ διαφορετικών ειδών ζώων κι ακόμη και μεταξύ ζώων του ίδιου είδους αλλά διαφορετικών φυλών, αλλά και επειδή οι μέθοδοι καταγραφής των αποτελεσμάτων διαφέρουν μεταξύ πειραματισμών, οι κατάλογοι παρατηρήσεων που θα χρησιμοποιηθούν σε ένα πειραματικό πρωτόκολλο πρέπει να είναι εξειδικευμένοι για καθεμιά από αυτές τις παραμέτρους (πειραματισμός, είδος και φυλή ζώου). Η διεξαγωγή προκαταρκτικών πειραμάτων για την αναγνώριση των παραμέτρων που θα χρησιμοποιηθούν στους καταλόγους παρατηρήσεων αποδεικνύεται ιδιαίτερα πολύτιμη.¹¹

Η διεξαγωγή προκαταρκτικών πειραμάτων είναι πολύ χρήσιμη και για τον καθορισμό των τελικών σημείων, ιδιαίτερα όταν οι συνέπειες της πειραματικής αγωγής στα ζώα είναι άγνωστες. Ένα «προ-πείραμα», στο οποίο θα χρησιμοποιηθεί μικρός αριθμός ζώων, μπορεί να βοηθήσει στον καθορισμό της νοσηρότητας, της χρονικής διαδρομής των συνεπειών της πειραματικής αγωγής και της απαιτούμενης συχνότητας παρατήρησης για την επαρκή

παρακολούθηση των ζώων. Ένα προκαταρκτικό πείραμα μπορεί, επίσης, να δώσει μια ένδειξη της ποικιλότητας των ανταποκρίσεων στην αγωγή ανάμεσα στις πειραματικές ομάδες, βοηθώντας έτσι στον πλέον ακριβή υπολογισμό του απαιτούμενου μεγέθους των ομάδων για το κυρίως πείραμα. Τέλος, αποτελεί ευκαιρία, για όλα τα άτομα που εμπλέκονται στον πειραματισμό, να αποκτήσουν μια πρώτη άποψη για τα αναμενόμενα συμπτώματα και ευρήματα.⁴

2.5. Καθορισμός της απαιτούμενης συχνότητας παρατήρησης των πειραματοζώων

Κατά τις κρίσιμες χρονικές περιόδους της διενέργειας του πειραματισμού, αλλά και κατά τις περιόδους όπου αναμένεται η εμφάνιση δυσμενών επιδράσεων στα ζώα, πρέπει να γίνονται τουλάχιστον 2–3 παρατηρήσεις ημερησίως. Η συχνότητα των παρατηρήσεων πρέπει να αυξάνεται ανάλογα με την πιθανότητα εμφάνισης –ή αύξησης– του πόνου ή/και της καταπόνησης.

Τα υγιή πειραματόζωα πρέπει να παρατηρούνται τουλάχιστον μία φορά την ημέρα. Όμως, όταν ένα ζώο εισέρχεται σε ένα πιθανόν κρίσιμο σημείο της έρευνας, ως προς την εξέλιξη της βλάβης, πρέπει να γίνονται συχνότερες παρατηρήσεις. Για κάθε μελέτη, είναι αναγκαίο να καθορίζεται η συχνότητα με την οποία πρέπει να παρακολουθούνται τα πειραματόζωα. Η απαιτούμενη συχνότητα παρατήρησης και τα μεσοδιαστήματα μεταξύ των παρατηρήσεων θα καθοριστούν με βάση την αναμενόμενη ή τη γνωστή χρονική εξέλιξη της κατάστασης. Για παράδειγμα, σε κάποιες περιπτώσεις πειραματικών λοιμώξεων/τοξικών απειλημάτων απαιτείται πολύ πιο συχνή παρατήρηση των ζώων (π.χ. κάθε ώρα) για τον καθορισμό της χρονικής στιγμής εκείνης που έχει αρχίσει να προσεγγίζεται το τελικό σημείο, όπου πρέπει να εξαλειφθούν ο πόνος ή/και η καταπόνηση του ζώου. Σε πειραματισμούς που αφορούν σε νεοπλασίες, η ανάπτυξη του όγκου και η κατάσταση του ζώου πρέπει να παρακολουθούνται συχνά κατά τη διάρκεια του πειραματικού πρωτοκόλλου. Η περισυλλογή πληροφοριών για την ανάπτυξη του όγκου κατά τη διάρκεια του πειραματισμού μπορεί να αποφέρει σημαντικότερα αποτελέσματα απ' ό,τι η απλή μέτρηση των τελικών διαστάσεων του όγκου. Η συχνότητα παρατήρησης καθορίζεται από τα χαρακτηριστικά ανάπτυξης του όγκου και την έναρξη των κρίσιμων σταδίων του πειραματισμού. Ζώα με όγκους των οποίων η ανάπτυξη έχει αρχίσει πρόσφατα ενδεχομένως πρέπει να παρακολουθούνται ελάχιστα κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης του όγκου, ενώ ζώα στα τελικά στάδια νεοπλασματικής νόσου πιθανόν να πρέπει να παρακολουθούνται πολλές φορές την ημέρα.⁴

Ο σχεδιασμός του πειράματος έτσι ώστε οι κρίσιμες

περίοδοι για τα ζώα να συμπίπτουν με το ωράριο εργασίας του προσωπικού, διευκολύνει τη διενέργεια των κατάλληλων παρατηρήσεων. Ο καταρτισμός του κατάλληλου «σχεδίου παρακολούθησης» των ζώων πρέπει να γίνεται από τον ερευνητή με τη συμβολή του κτηνιάτρου και την έγκριση της επιτροπής φροντίδας των πειραματοζώων (όταν υπάρχει).^{4,18}

2.6. Καθορισμός των υπευθύνων για την παρατήρηση των ζώων

Σε έναν πειραματισμό με ζώα, πρέπει να ορίζονται με σαφήνεια οι ευθύνες του κάθε ατόμου που εμπλέκεται και να σχεδιάζεται ένα σαφές σύστημα ιεραρχίας, με βάση το οποίο θα αναφέρονται τα ευρήματα από την παρακολούθηση των ζώων και θα αναλαμβάνεται η κατάλληλη δράση. Ο ορισμός ενός «συντονιστή της φροντίδας των πειραματοζώων» θεωρείται πολύ χρήσιμος. Το άτομο αυτό μπορεί να είναι, για παράδειγμα, ένας πεπειραμένος ζωοκόμος (animal technician), που θα εκτελεί χρέη συνδέσμου με το επιστημονικό και το υπόλοιπο τεχνικό προσωπικό και θα είναι υπεύθυνος για την ενημέρωση του καταλόγου παρατηρήσεων. Συγκεκριμένα, οι αρμοδιότητες και οι ευθύνες του συντονιστή είναι οι εξής:⁴

- Να ελέγχει τις άδειες των πειραματισμών, αλλά και να διασταυρώνει τα εγκεκριμένα πρωτόκολλα με τις ιατρικές πράξεις που είναι προγραμματισμένες να πραγματοποιηθούν τη συγκεκριμένη ημέρα
- Να ελέγχει τον κατάλογο των παρατηρήσεων πριν από την έναρξη του πειραματισμού
- Να γνωρίζει τους στόχους του πειράματος και να είναι εξοικειωμένος με τις ιατρικές πράξεις στις οποίες θα υποβληθούν τα ζώα στο πλαίσιο των πειραματισμών, καθώς και με τα κλινικά σημεία που μπορεί να κληθεί να αναγνωρίσει
- Να διασφαλίζει ότι όλοι οι εμπλεκόμενοι (ζωοκόμοι, επιστημονικά υπεύθυνοι, κτηνίατροι) γνωρίζουν πώς χρησιμοποιούνται οι κατάλογοι παρατηρήσεων και μπορούν να αναγνωρίσουν τα κλινικά συμπτώματα, αλλά και το σημείο στο οποίο πρέπει να βρουν εφαρμογή τα τελικά σημεία
- Να διασφαλίζει ότι ζωοκόμοι και τεχνικό προσωπικό που δεν ήταν εξοικειωμένοι με το πειραματικό πρωτόκολλο έχουν εκπαιδευτεί κατάλληλα
- Να εκτελεί χρέη συνδέσμου με το επιστημονικό προσωπικό κατά τη διάρκεια των πειραματισμών (π.χ. συγχρονισμός ενεργειών, απαιτούμενος εξοπλισμός, τελικά σημεία)

- Να ενημερώνει τους καταλόγους παρατηρήσεων και να αναγνωρίζει τα συμπτώματα ή τους συνδυασμούς συμπτωμάτων που αποτελούν τελικά σημεία, αλλά και να μπορεί να αναγνωρίσει μη αναμενόμενα κλινικά σημεία
- Να αναφέρει στους υπεύθυνους (κτηνίατρος ή επιστημονικά υπεύθυνος της έρευνας) οποιοσδήποτε ανησυχίας σχετικά με τα πειραματοζώα ή το προσωπικό.

Την τελική ευθύνη και τη δικαιοδοσία για ευθανασία την έχει ο κτηνίατρος που έχει οριστεί ως υπεύθυνος για τον πειραματισμό, με την υποστήριξη της επιτροπής φροντίδας των πειραματοζώων (όταν υπάρχει). Κατά τη διάρκεια της μελέτης, είναι απαραίτητο να είναι συνεχώς διαθέσιμο ένα κατάλληλα εκπαιδευμένο και έμπειρο άτομο, με δικαιοδοσία να διενεργεί ή να δίνει την εντολή για διενέργεια ευθανασίας. Στο άτομο αυτό πρέπει να αναφέρεται αμέσως οποιαδήποτε παρατήρηση ασυνήθιστης συμπεριφοράς των ζώων ή σημείων πόνου ή/και καταπόνησης. Εκείνος που θα επωμιστεί την ευθύνη για την ευθανασία των ζώων, τα οποία έχουν φθάσει στο τελικό σημείο ή έχουν υποστεί σοβαρές, μη αναμενόμενες βλάβες, πρέπει να ορίζεται πριν αρχίσει ο πειραματισμός. Η τελική ευθύνη παραμένει στον υπεύθυνο κτηνίατρο.

2.7. Εκπαίδευση του προσωπικού για την κλινική παρατήρηση των ζώων

Όλα τα άτομα που ορίζονται ως υπεύθυνα για την παρακολούθηση των ζώων πρέπει να είναι ικανά να εκτιμήσουν τη φυσιολογική κατάσταση και τη συμπεριφορά τους, αλλά και τις συγκεκριμένες αναμενόμενες αποκλίσεις από το φυσιολογικό.

Είναι ευθύνη του ερευνητή και της επιτροπής φροντίδας των πειραματοζώων –όταν υπάρχει– να βεβαιώσουν ότι όλο το προσωπικό που εμπλέκεται στη μελέτη έχει εκπαιδευτεί κατάλληλα ώστε να ανταποκριθεί στις αρμοδιότητές του. Η εκπαίδευση αυτή πρέπει να αποδεικνύεται.

2.8. Ο ρόλος της επιτροπής φροντίδας πειραματοζώων στη θέσπιση τελικών σημείων

Η «επιτροπή φροντίδας πειραματοζώων» έχει θεσπιστεί σε πολλές χώρες, αλλά στη χώρα μας δεν έχει θεσμοθετηθεί. Ωστόσο, σε κάποια επιστημονικά ερευνητικά ιδρύματα έχουν συσταθεί τέτοιες επιτροπές. Ουσιαστικά, η επιτροπή αυτή μπορεί να αποτελείται από τον υπεύθυνο του πειράματος, τους συνεργάτες του, τον υπεύθυνο κτηνίατρο του πειραματισμού και το προσωπικό που εμπλέκεται στη διαδικασία του πειραματισμού (νοσο-

κόμοι, ζωοκόμοι, τεχνικό προσωπικό κ.λπ.). Ο ρόλος της επιτροπής φροντίδας πειραματοζώων στην επιλογή και την εφαρμογή των πιο πρώιμων τελικών σημείων, που είναι ταυτόχρονα και συμβατά με την εξαγωγή αξιόπιστων για την έρευνα αποτελεσμάτων, είναι πρωταρχικός. Η ευθύνη αυτή, πρωτίστως, βαραίνει τον υπεύθυνο κτηνίατρο, αλλά και τον ερευνητή.

Η επιτροπή πρέπει να λάβει απαντήσεις σε ερωτήματα, όπως τα παρακάτω, ώστε να εξασφαλίσει την επιλογή του καταλληλότερου τελικού σημείου:⁴

- Ποια είναι η επιστημονική δικαιολόγηση για την εφαρμογή του προτεινόμενου τελικού σημείου;
- Ποιο είναι το αναμενόμενο χρονικό διάστημα από την αρχική πειραματική αγωγή έως την πρώτη εμφάνιση συμπτωμάτων πόνου ή και καταπόνησης και έως το θάνατο των ζώων, με βάση προηγούμενες πληροφορίες για το συγκεκριμένο πειραματικό μοντέλο;
- Πότε αναμένεται η εμφάνιση των σοβαρότερων επιπτώσεων στα ζώα;
- Αν η χρονική διαδρομή της νόσου και τα συμπτώματά της είναι άγνωστα, θα μπορούσε ένα αρχικό «προ-πείραμα» να εξοικειώσει τον ερευνητή;
- Έχει καταρτιστεί «κατάλογος παρατηρήσεων» για την παρακολούθηση των ζώων;
- Ποιος θα παρακολουθεί τα ζώα –αναφέρονται όλοι οι υπεύθυνοι– και θα τηρεί πρακτικά;
- Έχει σχεδιαστεί ένα σαφές σύστημα ιεραρχίας για την αναφορά των παρατηρήσεων;
- Ποια θα είναι η συχνότητα παρατήρησης των ζώων (α) κατά τη διάρκεια της εξέλιξης του πειράματος και (β) κατά τη διάρκεια των κρίσιμων για τα ζώα σημείων;
- Οι ερευνητές και το τεχνικό προσωπικό έχουν εκπαιδευτεί και εξειδικευτεί κατάλληλα στην παρατήρηση των (συγκεκριμένων) ζώων;
- Ποια μέριμνα έχει ληφθεί για τα ζώα που θα εμφανίσουν απρόβλεπτα βαριά κλινικά συμπτώματα;

- Για τοξικολογικές μελέτες, έχουν ληφθεί υπόψη τα υπάρχοντα τοξικολογικά δεδομένα;

3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο καθορισμός και η εφαρμογή ανθρωπιστικών τελικών σημείων είναι επίπονο έργο, που απαιτεί ιδιαίτερη δέσμευση, καινοτομία και νεωτερισμό από την πλευρά των επιστημονικά υπεύθυνων, των κτηνιάτρων και του τεχνικού προσωπικού. Οι ανησυχίες της κοινής γνώμης σχετικά με τέτοιες προσπάθειες αντανakλώνται στις νομοθετικές οδηγίες προς τα Εθνικά Ιδρύματα Υγείας, προκειμένου να σχεδιάσουν και να υποστηρίξουν ερευνητικά προγράμματα για μεθόδους διεξαγωγής ιατρικής έρευνας που θα προκαλούν λιγότερο πόνο ή και καταπόνηση στα ζώα. Σε μερικές περιπτώσεις, η ανάπτυξη και η εφαρμογή ανθρωπιστικών τελικών σημείων απαιτεί επιπρόσθετα κονδύλια. Ωστόσο, τέτοιες δαπάνες πρέπει να θεωρηθούν δικαιολογημένες υπό το πρίσμα του ενδεχόμενου οφέλους από την ανάπτυξη των τελικών σημείων. Το όφελος αυτό αφορά τόσο στην ευζωία των πειραματοζώων όσο και στην αποτελεσματικότητα της έρευνας και των πειραμάτων.⁵

Η χρήση ζώων, για επιστημονικούς σκοπούς, είναι αποδεκτή μόνο εφόσον μέσω αυτής αναμένεται συμβολή στην κατανόηση βασικών βιολογικών αρχών ή ανάπτυξη γνώσης η οποία θα ωφελήσει τους ανθρώπους ή τα ζώα. Ζώα πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο αν δεν υπάρχουν άλλες εναλλακτικές λύσεις. Η δημοσίευση σχετικών αποτελεσμάτων ώστε να κοινοποιούνται σε όλους τους ενδιαφερόμενους καινούργιες τεχνικές ή εναλλακτικές, η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας και η αυστηρή τήρηση του κανόνα των 3Rs αποτελούν απαραίτητες προϋποθέσεις για τον ερευνητή που θέλει να εξασφαλίζει, κατά το δυνατόν, την ευζωία των πειραματοζώων που χρησιμοποιεί. Όσοι χρησιμοποιούν πειραματοζώα, για ερευνητικούς σκοπούς, πρέπει να εφαρμόζουν ανθρωπιστικές μεθόδους στο μικρότερο δυνατό αριθμό πειραματοζώων που εξασφαλίζει την εγκυρότητα των αποτελεσμάτων.¹⁹

ABSTRACT

Choosing an appropriate endpoint in experiments using animals

I. SAVVAS, T. ANAGNOSTOU, G. KAZAKOS

Unit of Anesthesiology and Intensive Care, Clinic of Companion Animal, Faculty of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2009, 26(6):778–786

Animal use in experiments is a sensitive aspect of biomedical research which frequently creates ethical dilemmas. National and European legislation have established rigorous rules applicable to all research where animals are in-

volved. During experimentation pain or suffering may develop, or euthanasia may be required. It is essential for a point to be established beyond which no suffering or pain is justified, at which point either the experiment must be discontinued or euthanasia must be performed. The determination and assessment of the specific endpoint is a difficult task and it is based upon scientific and ethical rules. The close surveillance of the animals and the recognition and analysis of any shift from their normal behavior is of major importance. A pilot study can be very useful because it may reveal complications and undesirable effects, and predict outcome. The definition of legal and scientific responsibilities is a substantial part of every experiment and is essential for a successful outcome. The adequate training of the staff responsible for the care of the animals is of extreme importance. Animal use for scientific purposes is justified only by the anticipated benefit to humans or animals, and the absence of alternative methods. The animals used in experiments must experience the least possible suffering and pain, and there must be always an attempt to minimize their numbers. The definition of endpoints constitutes a substantial contribution to humane practice in experiments using animals.

Key words: Endpoint, Experimental animals

Βιβλιογραφία

1. RUSSELL WMS, BURCH RL. *The principles of humane experimental technique*. Methuen & Co, Special edition, Universities Federation for Animal Welfare (UFAW), Potters Bar, Herts, London, UK, England, 1992
2. BALLS M. Humane endpoints in animal experimentation for biomedical research: The biomedical sciences and the need for less-inhumane animal procedures. Proceedings of the International Conference on Humane Endpoints in Animal Experiments for Biomedical Research, Zeist, The Netherlands, 1998
3. MORTON DB. Humane endpoints in animal experiments for biomedical research: Ethical, legal and practical aspects. Proceedings of the International Conference on Humane Endpoints in Animal Experiments for Biomedical Research, Zeist, The Netherlands, 1998
4. ANONYMOUS. Guidelines on choosing an appropriate endpoint in experiments using animals for research, teaching and testing. Canadian Council on Animal Care. Accessed on November 15, 2008 from http://www.ccac.ca/en/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/GDLINES/ENDPTS/g_endpoints.pdf
5. STOKES WS. Humane endpoints for laboratory animals used in regulatory testing. *ILAR J* 2002, 43(Suppl):S31–S38
6. RICHMOND J. Humane endpoints in animal experiments for biomedical research: Criteria for humane endpoints. Proceedings of the International Conference on Humane Endpoints in Animal Experiments for Biomedical Research, Zeist, The Netherlands, 1998
7. TOTH LA. Defining the moribund condition as an experimental endpoint for animal research. *ILAR J* 2000, 41:72–79
8. MORTON DB, GRIFFITHS PH. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and a hypothesis for assessment. *Vet Rec* 1985, 116:431–436
9. SCHARMANN W. Humane endpoints in animal experimentation for biomedical research: Physiological and ethological aspects of the assessment of pain, distress, and suffering. Proceedings of the International Conference on Humane Endpoints in Animal Experiments for Biomedical Research, Zeist, The Netherlands, 1998
10. ΑΝΑΓΝΩΣΤΟΥΤ, ΠΕΡΡΑΚΗ Μ, ΣΑΒΒΑΣ Ι, ΡΑΠΤΟΠΟΥΛΟΣ Δ. Αναγνώριση και αξιολόγηση-εκτίμηση του πόνου σε πειραματόζωα (τρωκτικά, κόνικλος). *Ελληνικό Περιοδικό Περιεγχειρητικής Ιατρικής* 2004, 2:68–76
11. MORTON DB. A systematic approach for establishing humane endpoints. *ILAR J* 2000, 41:80–86
12. CUBETALER K, MORTON D, HENDRIKSEN CF. Humane endpoints as a replacement for the estimation of lethality rates in the potency testing of rabies vaccines. *ALTEX* 1998, 15:40–42
13. WONG JP, SARAVOLAC EG, CLEMENT JG, NAGATA LP. Development of a murine hypothermia model for a study of respiratory tract influenza virus infection. *Lab Anim Sci* 1997, 47:143–147
14. SOOTHILL JS, MORTON DB, AHMAD A. The HD50 (hypothermia-inducing dose 50): An alternative to the LD50 for measurement of bacterial virulence. *Int J Exp Pathol* 1992, 73:95–98
15. BUTLER SH, WEIL-FUGAZZA J, GODEFROY F, BESSON JM. Reduction of arthritis and pain behavior following chronic administration of amitriptyline or imipramine in rats with adjuvant-induced arthritis. *Pain* 1985, 23:159–175
16. De CASTRO COSTA M, De SUTTER P, GYBELS J, VAN HEES J. Adjuvant-induced arthritis in rats: A possible animal model of chronic pain. *Pain* 1981, 10:173–185
17. ROUGHAN JV, FLECKNELL PA, DAVIES BR. Behavioral assessment of the effects of tumor growth in rats and the influence of the analgesics carprofen and meloxicam. *Lab Anim* 2004, 38:286–296
18. WALLACE J. Humane endpoints and cancer research. *ILAR J* 2000, 41:87–93
19. ANONYMOUS. Ethics of animal investigation. Canadian Council on Animal Care. Accessed on November 15, 2008 from http://www.ccac.ca/en/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/POLICIES/ETHICS.HTM

Corresponding author:

I. Savvas, Clinic of Companion Animals, Faculty of Veterinary Medicine, 11 Stavrou Voutyra street, GR-546 27 Thessaloniki, Greece
e-mail: isavas@vet.auth.gr