

## Humane endpoints

**המדדים, המשמשים לסיום ניסויים בשלב מוקדם, כדי למנוע או להפסיק כאב שלא ניתן להרגעה ו/או סבל עז, וזאת מבלי לפגוע בתוצאות הניסוי. באופן אידיאלי, נקודות הפסקת הניסוי ההומאניות יהיו בשלב שלפני הופעת הסבל והכאב.**

אם ניתן לצפות כאב וסבל, יש לספק בפרוטוקול תכנית מפורטת מתי וכיצד יוקלו הכאב והסבל התכנית צריכה להכיל מדדים מפורטים בכתב לנקודות סיום הומאניות של הניסוי, שימשו לקביעת הזמן שבו יוצאו בעלי החיים מהמחקר, יטופלו או יומתו. צריכות להיות הוראות ברורות מי יקבל את ההחלטות להמית או לטפל בבעלי החיים, כולל מצבים המתפתחים בסופי שבוע, חגים או בהיעדרו של החוקר האחראי על המחקר. גם אם לא צפוי כאב או סבל, כל פרוטוקול יכלול תכנית בדיקה ובקרה של בעלי החיים במהלך הניסוי.

ניתן לפתח גיליונות מעקב קליניים כדי לבסס נקודות הפסקת ניסוי הומאניות. גיליונות מעקב משמשים לרישום ולזיהוי סימנים קליניים ומצבים הקשורים עם מודל ניסויי מסוים. סימן בודד או סימנים אחדים היכולים להצביע על התפתחות סיום הניסוי המסוים, יכולים לשמש לאפשרות של סיום מוקדם ויותר הומני של הניסוי.

### נקודת הפסקת הניסוי

בעלי חיים, שבהם משתמשים בניסויים, יכולים לסבול ממחלות המושרות בהם, מניסויי רעילות ומתהליכים פוגעים נוספים. כללי המועצה קובעים, שפרוצדורות, שבהם יש כאב או סבל ממושכים, יבוצעו תוך שימוש בחומרי הרגעה או בהרדמה. אולם קיימים מחקרים ובדיקות, שבהם השימוש בחומרים אלה עלול להפריע למטרות המדעיות של הניסוי. לפיכך, הכללים דורשים, שהוועדות המוסדיות יוודאו, שהפגיעה בבעלי החיים תהיה מוגבלת לבלתי נמנע כדי לקיים את הדרוש למחקר ושהכאב והסבל הקיימים ימשכו רק לפרק הזמן ההכרחי להשגת התוצאה המדעית הנדרשת.

### פיתוח נקודות הפסקת ניסוי הומאניות

למדדים, המשמשים לסיום ניסויים בשלב מוקדם, כדי למנוע או להפסיק כאב שלא ניתן להרגעה ו/או סבל עז, מתייחסים כנקודות הפסקת ניסוי הומאניות. קיימת חשיבות מרובה לכך, שנקודות הפסקת ניסוי הומאניות יבטיחו, שמטרות הניסוי יושגו למרות סיומו בשלב מוקדם. באופן אידיאלי, נקודות הפסקת הניסוי ההומאניות יהיו בשלב שלפני הופעת הסבל והכאב.

חשוב להבין, שעקה יכולה לגרום לסבל, וזאת כאשר שינוי בתפקוד ביולוגי, שאליו אין בעל החיים יכול להסתגל, מסכן את איכות חיי בעל החיים. אם ניתן לצפות כאב וסבל, יש לספק בפרוטוקול תכנית מפורטת מתי וכיצד יוקלו הכאב והסבל. התכנית צריכה להכיל מדדים מפורטים בכתב לנקודות סיום הומאניות של הניסוי, שימשו

לקביעת הזמן שבו יוצאו בעלי החיים מהמחקר, יטופלו או יומתו. צריכות להיות הוראות ברורות מי יקבל את ההחלטות להמית או לטפל בבעלי החיים, כולל מצבים המתפתחים בסופי שבוע, חגים או בהיעדרו של החוקר האחראי על המחקר. גם אם לא צפוי כאב או סבל, כל פרוטוקול יכול תכנית בדיקה ובקרה של בעלי החיים במהלך הניסוי.

פיתוח נקודות הפסקת ניסוי הומאניות ושימוש בהן, יכול להפחית את משך ואת חומרת הכאב והסבל שלא הקלו עליו. ניתן לפתח גיליונות מעקב קליניים כדי לבסס נקודות הפסקת ניסוי הומאניות. גיליונות מעקב משמשים לרישום ולזיהוי סימנים קליניים ומצבים הקשורים עם מודל ניסוי מסוים. סימן בודד או סימנים אחדים היכולים להצביע על התפתחות סיום הניסוי המסוים, יכולים לשמש לאפשרות של סיום מוקדם ויותר הומני של הניסוי.

הכנה וביצוע של נקודות הפסקת ניסוי הומאניות מושגת בצורה הטובה ביותר כאשר יש שיתוף פעולה בין החוקרים, הווטרינרים והמטפלים בבעלי החיים.

### **מצב גסיסה כנקודת הפסקת ניסוי הומאנית**

גסיסה מוגדרת כבעל חיים "במצב לקראת מיתה" או "לקראת נקודת המוות". מצב גסיסה יכול להיות נקודת הפסקת ניסוי הומאנית מתאימה לניסויים בהם יש השריה של מחלות קשות עם אחוז גבוהה של תמותה. המתה מוקדמת יכולה למנוע כאב וסבל.

מדדים המבוססים על נתונים אובייקטיביים היכולים לחזות מוות קרב ובא יכולים לאפשר המתת חסד כדי למנוע מוות ספונטני. על הוועדות המוסדיות לעודד המתה הומאנית של בעלי חיים גוססים, אולם חשוב להבין, שהמתת חסד של בעלי חיים גוססים לא מונעת כאב וסבל שהם סובלים תוך התפתחות תהליך הגסיסה. יש לציין עוד, שלמרות, שמוות לא נדרש כנקודת הסיום של מחקרי רעילות, ניתן למצוא לעיתים בעלי חיים מתים תוך כדי המחקר. קביעת שיטות לקביעת המצב של גסיסה או קדם-גסיסה והמתת חסד של בעלי החיים במצבים אלה, יכולה להקטין את מספר בעלי החיים המתים באופן ספונטני. בנוסף להקטנת הכאב והסבל של בעלי החיים, מאפשרת המתה של בעלי חיים גוססים איסוף רקמות ודוגמאות ביולוגיות נוספות, שאחרת ילכו לאיבוד כאשר בעל החיים נמצא מת.

סימנים קליניים שונים מצביעים על מצב של גסיסה בחיות מעבדה. סימנים כאלה הם:

- ◆ תנועה מוגבלת שאינה מאפשרת לבעל החיים להגיע לאוכל או למים.
- ◆ איבוד משקל רב והרזיה.
- ◆ חוסר פעילות פיזית או עירנות מנטלית.
- ◆ קשיי נשימה.

◆ חוסר יכולת לשמור על יציבות.

יש לעקוב לעיתים קרובות אחרי בעלי החיים כדי להבחין בסימנים של מוות קרב ובא, על מנת שאפשר יהיה לבצע המתת חסד בזמן. כאשר צפויים מצבי מחלה ומוות מוגברים מומלץ על בדיקת בעלי החיים מספר פעמים ביום. יש להמית בעלי חיים שצפוי שלא ישרדו עד הבדיקה הבאה. כאשר מוצאים מספר גדול של בעלי חיים מתים, יש להגביר את קצב הבדיקות כדי להפחית את מספר בעלי החיים המתים ספונטנית. המתת החסד של בעלי חיים גוססים או סובלים תעשה בדרך שלא תגביר את סבלם.

### **נקודות נוספות להפסקת ניסוי במהלך מחקר**

בעלי חיים משמשים במחקר ביולוגיה של גידולים לשם פיתוח תרופות וטיפולים חדשים לסרטן. כמו כן משמשים בעלי חיים כדי להעריך את פוטנציאל גרימת גידולים של חומרים שונים. מכיוון שבמחקרים אלה קיימים שלבים הכוללים סבל וכאב, יש לבצע בדיקות תכופות במהלך הופעת הגידולים, כדי לאפשר התערבות מתאימה לפני מות בעלי החיים. שיטות בקרה יעילות ונקודות הפסקת ניסוי יכללו מגבלות על גודל הגידול וחומרת המחלה המתפתחת. שינויים במדדים פיסיולוגיים, ביוכימיים ומדדים ביולוגיים נוספים, יכולים להיות מדויקים יותר מהמדדים הקליניים במחקרים כאלה.

במודלים של בעלי חיים, שעברו שינויים גנטיים מופיעות לעיתים תופעות בלתי צפויות, שלא נחזו מראש, והמשפיעות על איכות החיים של בעל החיים. החוקרים צריכים להכין תכנית כדי לטפל בתוצאות בלתי צפויות בבעלי החיים שעברו שינויים גנטיים. יש צורך בתכנית לאפיון שיטתי של הפנוטיפים כדי להעריך את השימוש בהם ולקבוע נקודות זמן להמשך או סיום המחקר באותה חיה. הוועדה המוסדית צריכה לפקח על מחקרים כאלה כדי להבטיח שבעיות הרווחה של בעלי החיים יטופלו בדרך נכונה ויעילה.

לבעלי חיים המודבקים בגורמים פתולוגיים יכול להיגרם כאב וסבל רב בזמן התפתחות המחלה. נמצא, שבמקרים רבים ניתן לסיים את הניסוי ולהמית את בעלי החיים בהתאם למדדים פיסיולוגיים וביוכימיים מוקדמים ואין צורך לחכות לגסיסה ומוות. נמצא, שירידה בטמפרטורת הגוף מהווה ניבוי טוב למוות הקרב בכמה סוגי זיהום במכרסמים.

בדיקת יכולת תרכובות חיסוניות דורשת הדבקת בעלי חיים שחוסנו בגורמים מדבקים. בעבר נדרשה בדיקת מוות כנקודת סיום ואילו היום יש כבר רשויות פיקוח המאפשרות המתת חסד של בעלי חיים גוססים.

בדיקות רעילות - לבעלי חיים הנבדקים בבדיקות רעילות יכול להיגרם כאב וסבל רב בזמן התפתחות תוצאות הפעילות הרעילה. רשויות הפיקוח והבקרה בבדיקות הרעילות מאפשרות שימוש במשככי כאבים בחיות ניסוי רק כאשר אין הפרעה למהות הבדיקה. לפיכך השימוש במשככי כאבים ובחומרי הרגעה הוא נדיר בסוג זה של ניסויים. מכאן שטיפול בכאב וסבל בבדיקות רעילים מושג בעיקר על ידי המתת חסד של בעלי החיים הסובלים מכאב.

במצב הנוכחי, כללי הבקרה קובעים שבעלי חיים בבדיקות רעילות השרויים באופן ברור בכאב או בסבל ממושך, יומתו המתת חסד ולא יושארו בחיים עד תום הניסוי המתוכנן. יש לקבוע מראש נקודת הפסקת ניסוי הומאנית.

## מוות כנקודת סיום הניסוי

מוות כנקודת סיום הניסוי הוא מדד אובייקטיבי וחד משמעי ולכן שימש תמיד כנקודת סיום הניסוי המועדפת על ידי גורמי בקרה, רישוי והערכה (למשל בטיחות תרופות ובדיקות יעילות) בבדיקות ומחקרי סרטן, גורמי מחלות זיהומיות ובדיקות אחרות בבעלי חיים. עליה במודעות דעת הקהל הביאו לבדיקה מחודשת של הנושא. תשומת לב רבה הופנתה לשימוש בשיטת ה- LD50 לבדיקת רעילות אקוטית של כימיקלים ותרופות. אולם כיום, רשויות הפיקוח והבקרה מאפשרות לבצע המתת חסד בבעלי חיים הנבדקים לרעילות, גם אם הם גוססים או סובלים סבל רב, ואין צורך לחכות למוות ספונטני. המתת חסד מאפשרת גם, קבלת רקמות במצב מתאים יותר לבדיקות שונות, ומפחיתה את הסבל הפוטנציאלי מבעל החיים. מכאן שהמתת חסד לעיתים קרובות עדיפה הן מההיבט המדעי והן מההיבט האתי. השימוש במוות כנקודת סיום הניסוי אינו רצוי ותמיד צריך למצוא הצדקה מיוחדת לשימוש בו. סיום ניסוי אחר ממוות, צריך תמיד להישקל ויש להשתמש בו, כאשר מהלך הניסוי מאפשר שימוש בסיום שאינו מוות. שימוש במוות כנקודת סיום הניסוי חייב להיות מנומק בכתב בהצעה ולהיות מאושר על ידי הוועדה המוסדית לפני תחילת הניסוי.

### טבלה מס' 5 - דוגמאות לאפשרות סיום הומאני לניסוי, במחקרים שבהם יש אפשרות לסיום הניסוי במוות.

נקודת הסיום	איפיונים לנקודת הסיום	יישום מחקרי
גידול סרטני- גדילה או השפעה של גידול סרטני.	הגידול גדול מ – 10% ממשקל הגוף. ניוון אזור הגידול, זיהום, יצירת כיבים, הפרעות לתנועה או לאכילה ושתייה.	גידולים והיברידומות תחת העור או אינטראפריטונאליים.
חוסר תיאבון ממושך.	ירידה מהירה במשקל (>20% ממשקל הגוף הנורמלי).	מחלות גרורתיות או זיהומים כרוניים.
חוסר יכולת תנועה.	רביצה ממושכת.	סוגי מחקר רבים.
סימנים של פגיעה קשה באבר או מערכות גוף	נשימה: מהירה או כבדה, שעול. מערכת הלב: דימומים, הלים.	בדיקות רעילות. מחלות סיסטמתיות.

	מערכת העיכול: שלשול חריף או הקאות. מערכת העצבים הפריפרית: ריפיון או עוויתות ושיתוק. סימנים במערכת העצבים המרכזית: סיבובים, עיוורון, התכווצויות, התנהגות דמנטית.	שונות.
מחקרים במחלות זיהומיות. מחקרים בפיתוח חיסונים.	ירידה של 4-6°C בטמפרטורת הגוף במכרסמים.	ירידה מתקדמת בטמפרטורת הגוף.
סוגי מחקר רבים.	מוגדר בסימנים קליניים מוגדרים והמתת חסד כשזה קורה.	מצב גסיסה או טרום גסיסה.

### המתת חסד

המתת חסד פירושה המתה של בעל חיים בשיטה הגורמת לאובדן הכרה מהיר ובעקבותיו למוות בלי שבעל החיים יראה סימני כאב או עקה. או לחילופין, שיטה המבוססת על הרדמת בעל החיים באמצעות חומר הגורם לחוסר הכרה ובעקבותיו למוות. בחירת השיטה תלויה במין בעל החיים, גילו היכולת לרסנו, הידע המקצועי של המבצע ובפרמטרים נוספים וביניהם התאמת שיטת ההמתה למטרות המחקר. הוועדה המוסדית נדרשת לבחון ולאשר את שיטת ההמתה. שיטת ההמתה צריכה להיות אחת מהשיטות המאושרות על ידי אגודת הווטרינרים האמריקאית (<http://www.avma.org/resources/eutaanasia.pdf>) או ארגונים אירופיים (<http://www.lal.org.uk/endpoints1.html>). בחירת שיטה שאינה מאושרת על ידי ארגונים אלה דורשת הבהרת והצדקתה בכתב בפני הוועדה המוסדית.

הקריטריונים עליהם מבוססות ההמלצות להמתת חסד הם:

1. גרימת מינימום כאב ועקה.
2. השגת חוסר הכרה במהירות המירבית.
3. אמינות השיטה וחוסר יכולת של בעל החיים להתעורר.
4. בטיחות המבצע ומידת ההשפעה הרגשית על המבצע.
5. התאמת השיטה לדרישות מחקריות כולל שימושים עתידיים ברקמות.
6. התאמה למין בעל החיים גילו ומצבו הבריאותי.
7. אפשרות ההשגה של חומר ההמתה.

## שיטות

אגודת הווטרנרים האמריקאית (AVMA) חילקה את שיטות ההמתה לשלוש קבוצות:

### 1. שיטות מותרות:

- ברביטורטים (רוב מיני בעלי החיים).
- דו תחמוצת הפחמן (CO<sub>2</sub>) ממיכלי גז (רוב מיני בע"ח).
- הרדמת גז (רוב מיני בע"ח).
- קרנת מיקרו (עכברים וחולדות).
- TMS (Tricaine MethaneSulfonate) (דגים ודו חיים).
- בנזוקאין הידרוכלוריד (דגים ודו חיים)
- Captive bolt (סוסים, מעלי גירה, חזירים).
- אתר וחד תחמוצת הפחמן (רוב מיני בעלי החיים, אולם מסוכנים למבצע).

2. שיטות מותרות על תנאי (השימוש בהן דורש אישור הוועדה המוסדית לאחר הצדקה מחקרית או אחרת): -

1. ניתוק מפרקת (ציפורים, מכרסמים קטנים, ארנבות קטנות).
2. גליוטינה (ציפורים, מכרסמים).
3. דיקור עמוד שדרה – Pithing (חלק ממיני ה-ectoderms).

שיטות המותרות על תנאי נחשבות כמותרות, אם הן מבוצעות על בעלי חיים מורדמים. שיטות המתה מסוימות (כגון KCl, דימום טרינלי וכדומה) מותרות אך ורק על חיות מורדמות.

### 3. שיטות אסורות:

כלורל הידרט, כלורופורם, ציאניד.  
משתקי שרירים.

דו תחמוצת הפחמן המיוצר מקרח יבש.  
דקומפרסיה.

## דף מדדים כללי

0	נורמאלי	הופעה כללית
1	הפסקת ניקיון אישי	
2	פרווה סמורה באופן חלקי	
3	פרווה סמורה באופן קבוע	אבדן משקל
0	נורמאלי	
1	פחות מ 5%	
2	פחות מ 15%	
3	יותר מ 20%	סימנים קליניים
0	נורמאלי	
1	שינויים קלים	

2	אפיסת כוחות זמנית (פחות מ שעה)	
3	אפיסת כוחות מתמשכת	
0	נורמאלי	התנהגות
1	שינויים קלים	
2	ירידה בתנועה ובעירנות	

הוצאת בעל החיים כל תוצאה של 3 או שתי תוצאות של 2 מהניסוי

### סימני כאב אצל עכבר

סגירה של העיניים חלקית או מלאה, עיניים שקועות
שינויים בקצב הנשימה - ירידה או עליה בקצב או נשימה קשה
פרווה סתורה בגלל אי הברקה שלה על ידי העכבר
חוסר תגובה לאחזקה על ידי המטפל
פרישה של העכבר מתוך הקבוצה
השמעת קולות, נשיכה עצמית וקטיעה עצמית
עמידה מכווצת
ריצה פתאומית תנועות חדות
התייבשות אובדן משקל, בטן רזה ודילול שרירים
אי שליטה בשרירים הסתובבות סביב עצמו
ירידה בחום הגוף

### הפחתת כאב

צריך לתת משככי כאב בפה או בהזרקה כל כ 5 שעות
לכאב קטן - מומלץ להוריד את הסטרס הסביבתי על ידי - מתן כלוב יבש ונקי, חם עם מים ומזון רך וטעים
צריך לבודד עכברים אחרי ניתוח מתוקפנות של אחרים
כל שינוי סביבתי מכניס לסטרס- צריך למזער את השינויים : לתת אותו מזון אבל רך, לא לשנות מיקום או תאורה
הדבר היחידי שכדאי לשנות הוא חום - הם מתאוששים טוב יותר בסביבה חמה יותר
לכאבים ברמה גבוהה יותר יש צורך במתן תרופות

### המתה - עקרונות

אבדן מהיר של הכרה
ללא פחד או כאב

לא לחשוף עכברים אחרים להמתה בראיה שמיעה ריח  
מבוצע על ידי אדם מיומן שעבר הדרכה מתאימה

## שיטות המתה

מתאים אבל יש לטפל בשאריות הגז	<b>מנת יתר של הרדמה בגז</b>
איוורור טוב בכדי לא לפגוע בעובדים יש להשתמש ב CO בלבד בריכוז של יותר מ 6%	<b>קרבון מונוקסיד</b>
בכדי למנוע כאב צריך להשתמש בריכוז של לפחות 70% לחיות בהכרה. לא מתאים לולדות או למי שיש לו בעיות נשימה.	<b>קרבון דיאוקסיד</b>
מינון של 100 מ"ג לק"ג IP או שאפשר לתת גם IV בזנב	<b>מינון יתר של ברביטורטים</b>
מכשיר יחודי להמתה - אסור להשתמש במיקרו רגיל	<b>מיקרו עריפה</b>
רק באישור של IACUC רק בהכשרה מתאימה. צריך מכשיר מיוחד-גיליוטינה. מראה לא מלבב.אם מבוצע שלא כהלכה -גורם לכאב לכן לעיתים יש להרדים קודם לכן	
מתאים רק לחולדות עד 200 גרם, רק באישור של IACUC רק בהכשרה מתאימה. יש גם ציוד מיוחד.לא מלבב	<b>דיסלוקציה צרביקלית</b>
<b>אסור בגלל שנפיץ</b>	<b>אתר</b>

## ENDPOINTS

יש ENDPOINT משני סוגים : אחד מדעי ואחד הומני.  
המדעי בה לקבוע טבלת מדדים של סימנים קליניים ושל התפתחות המחלה על מנת להשיג מעקב מדוייק ואובייקטיבי להתפתחות המחלה ולדרך הטיפול הממולצת.  
בדרך זאת לעיתים גם ללא סבל של החיה מקריבים אותה על מנת לדעת למה היא גרמה ומה הדרך המתאימה יותר לטפל בה.  
למשל במודל של MS בקופים . היו שתי צורות בולטות למחלה : האחת אינפטיבית – אקוטית . השניה כרונית יותר שהביאה לדהמיליניזציה של העצבים.



אם המחלה היתה יותר אוטו אימונית זה הלך יותר לתמונה של דה מיליניזציה. אם המערכת החיסונית של החיה הגיבה טוב יותר (לא כל הקופים הגיבו באותה צורה להזרקה של האנטי-אנטיגן EAE) – אז ראינו תמונה אינפטיבית .

במקביל ל ENDPOINT המדעי היה בפרוייקט ENDPOINT הומני. האידאלי הוא כמובן ששניהם חופפים. אבל לפעמים למרות שיש תכנון להקריב את החיה בעוד 5 ימים רואים כי היא מתקרבת למה שהוגדר כנקודת סיום הומנית ואז מוציאים אותה מהניסוי או משנים את תנאי הניסוי.

התייחסות שונה בבחירת נקודות סיום בין בעלי חיים שונים –

שימוש בנקודות סיום בשני מודלים :

1. חקר סרטן – MAB

2. אחר – EAE

חיסון של החיה ב AUTO –ANTIGEN בכדי לגרום לתגובה אימונולוגית למודל אוטואימוני כמו EPIZOTIC AUTOIMUNE ENCEFALICITIS EAE MS יש שינויים אינפלמטוריים או של דהמיליניזציה.

השינויים האינפלמטוריים הם שקובעים האם המחלה היא כרונית או אקוטית.

בודקים איזה שינויים מעורבים – ממיתים חיות לפני או אחרי טיפול ורואים האם זה מפחית את האינפלמציה או מפחית את הדמיליניזציה.

המודל קיים בעכברים – ארנבות או קופים.

לוקחים חומר שמקורו במוח מפרקים אותו ומעבדים במעבדה ומזריקים לחיה .

תוך 10-30 יום לאחר ההזרקה יש MS .

המחלה לא מופיעה בכולם באותה צורה בחלק זה אקוטי ובחלק זה כרוני, בגלל שלא כולם מגיבים אותו דבר במערכת האימונולוגית שלהם ולכן הפגיעה היא שונה וגם הסימנים הקליניים.

צריך שיהיה לך דף סקורינג גם לצד המדעי וגם לצד של הסיום ההומני- אתה בודק כל הזמן

איזו פגיעה זאת ואיך היא מגיבה לטיפול.

זה מתחיל בצליעה וממשיך עד למצב של שיתוק כללי.

עושים פתולוגיה כל הזמן לפני ואחרי טיפול