

«Αρχές Πειραματικής Χειρουργικής»

Δρ. Λασκαρίνα – Μαρία Κορού

Κτηνίατρος, Επιστημονικός Συνεργάτης Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν.Σ.Χρηστέας», Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

Πειραματικά χειρουργικά πρωτόκολλα σε τρωκτικά: Από την προετοιμασία του πρωτοκόλλου, μέχρι την μετεγχειρητική παρακολούθηση

Εισαγωγή

Οι σύγχρονες εξελίξεις στην ιατρική και τη βιολογία, προτείνουν νέες πρακτικές στην έρευνα με σκοπό την μειωμένη χρησιμοποίηση πειραματοζώων. Έτσι οι *in vitro* μελέτες σε κυτταροκαλλιέργειες, τα μαθηματικά μοντέλα ή οι υπολογιστικές προσεγγίσεις προσομείωσης χρησιμοποιούνται συχνά σε μελέτες, στις οποίες, μέχρι και πριν κάποια χρόνια επιλέγονταν τα ζωικά πειραματικά πρότυπα. Παρά το ότι η ερώτηση εάν τελικά τα ζώα πρέπει να χρησιμοποιούνται στην έρευνα παραμένει αντικείμενο αντικρουόμενων απόψεων και πεποιθήσεων, οι ερευνητές συμφωνούν στο ότι ακόμα και οι πιο εξελιγμένες τεχνολογίες δεν μπορούν, τουλάχιστον μέχρι σήμερα, να αναπαράγουν στον ίδιο βαθμό, την πολυπλοκότητα και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων, μορίων, ιστών και οργάνων που λαμβάνουν χώρα σε έναν πολυκυττάριο οργανισμό. Ωστόσο, η χρησιμοποίηση πειραματοζώων στην βιοιατρική έρευνα θα πρέπει να γίνεται σεβόμενη την ευζωία των πειραματοζώων, ακολουθώντας τις αρχές τις εθνικής και διεθνούς νομοθεσίας και πάντα βάσει επαρκούς επιστημονικής τεκμηρίωσης. (1)

A. Πειραματική Χειρουργική Έρευνα

Η σύγχρονη πειραματική χειρουργική έρευνα στοχεύει στη διερεύνηση και εν συνεχεία μεταφορά στην κλινική ιατρική πράξη νέων μεθόδων και τεχνικών. Τα τρωκτικά (μύες και επίμυες κυρίως) αποτελούν ευρέως χρησιμοποιούμενα ζωικά μοντέλα κατά την εκπόνηση των πειραματικών πρωτοκόλλων. Το μικρό μέγεθός τους που συνεπάγεται ευκολία στην εκτροφή και διαχείρισή τους, η ανθεκτικότητά τους, σε συνδυασμό με τη δυνατότητα μελέτης τους σε σχετικά μεγάλους αριθμούς, καθιστούν τα τρωκτικά αρρωγό των περισσότερων χειρουργικών πρωτοκόλλων στα μεγαλύτερα κέντρα βιοιατρικής έρευνας. Οι παρεμβάσεις μπορούν να διακριθούν στις απλές τεχνικές (αιμοληψία, παρεντερική χορήγηση ουσιών, παρακέντηση κύστεων), σε πιο πολύπλοκες χειρουργικές τεχνικές (πχ αφαίρεση ωοθηκών, καθετηριασμός αγγείων) και σε τεχνικές που οδηγούν σε μια συγκεκριμένη παθολογική κατάσταση (πχ πρόκληση οξείας νεφρικής ανεπάρκειας, ογκογένεση, πρόκληση εγκεφαλικής ισχαιμίας κλπ).

B.Σχεδιασμός χειρουργικού πρωτοκόλλου με τρωκτικά

Προεγχειρητικά

Ο αρχικός σχεδιασμός ενός πειραματικού χειρουργικού πρωτοκόλλου με τρωκτικά περιλαμβάνει μεταξύ άλλων, την διεξοδική ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας με σκοπό την επιλογή του καταλληλότερου ζωικού μοντέλου (πχ είδος τρωκτικού, επιλογή strain, επιλογή διαγονιδιακών ζώων) και φυσικά και την σε βάθος μελέτη της τεχνικής που πρόκειται να εφαρμοστεί. Η έκδοση άδειας πειραματισμού από την αρμόδια κτηνιατρική υπηρεσία είναι απαραίτητη προϋπόθεση για οιαδήποτε πειραματική διαδικασία σε ζώα.

Πολύ σημαντική είναι η εξασφάλιση του απαραίτητου υλικοτεχνικού εξοπλισμού που περιλαμβάνει τον κατάλληλο χώρο στέγασης και εκτροφής των πειραματοζώων, την προμήθεια ειδικής διατροφής και τη ρύθμιση των συνθηκών αερισμού και θερμοκρασίας στο χώρο της εκτροφής. Κατά την παραμονή των ζώων στο χώρο του εργαστηρίου, ο ερευνητής θα πρέπει να τηρεί ημερολόγιο στο οποίο θα καταγράφει καθημερινά στοιχεία που αφορούν την χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων, κάποια πιθανή παρέμβαση, μεταβολές στην κλινική εικόνα των ζώων κλπ, ενώ όταν διαπιστωθεί κάποια μη φυσιολογική εξέλιξη, θα πρέπει ακολουθεί ενημέρωση του υπεύθυνου κτηνιάτρου της πειραματικής μονάδας. (2)

Ουσιαστική στην εξέλιξη μιας πειραματικής χειρουργικής μελέτης είναι η προμήθεια αναλωσίμων και εξοπλισμού για την καθευατή χειρουργική παρέμβαση (επαρκής φωτισμός, σύριγγες, βελόνες μικρής διατομής, χειρουργικά εργαλεία, επιλογή αναισθητικού σχήματος και κατάλληλου εξοπλισμού, σωστή αντοσηψία, εξασφάλιση αποστειρωμένων περιεκτών, χειρουργικές οθόνες, αποστειρωμένες γάζες κλπ). Ειδικότερα όταν δεν υπάρχει προγενέστερη εξοικείωση του ερευνητή με τα πειραματοζώα, πολύ σημαντική είναι η εκπαίδευσή του από εξειδικευμένο προσωπικό (κτηνίατρος, τεχνολόγος ζώων εργαστηρίου), για τον τρόπο με τον οποίο θα πρέπει να γίνεται η σύλληψη ή συγκράτηση ενός τρωκτικού ή η διενέργεια απλών παρεμβάσεων όπως για παράδειγμα η υποδόρια/ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση κάποιας ουσίας.

Τα ζώα που πρόκειται να μελετηθούν σε χειρουργικά πρωτόκολλα θα πρέπει πριν από την ένταξή τους σε αυτά να σημαίνονται κατάλληλα για να είναι εφικτή η ταυτοποίησή τους δηλαδή η σωστή σήμανσή τους, η καταγραφή του σωματικού βάρους τους, της ακριβούς ηλικίας τους και της κατάστασης υγείας τους. Επιπρόσθετα πέρα από την κλινική εξέταση του ζώου, σε ορισμένα πρωτόκολλα συνιστάται η διενέργεια απλών εργαστηριακών εξετάσεων (πχ προσδιορισμός αιματοκρίτη, επιπέδων γλυκόζης αίματος) ή πχ η καταμέτρηση της αρτηριακής πίεσης των ζώων.

Πριν τη διενέργεια χειρουργικών τεχνικών σε μια πειραματική μελέτη με τρωκτικά, πολύ σημαντική κρίνεται η σωστή προετοιμασία του πειραματοζώου (πχ 12ωρη

νηστεία εάν πρόκειται για επεμβάσεις στο γαστρεντερικό σωλήνα αν και γενικότερα η νηστεία δεν κρίνεται απαραίτητη). Το ζώο θα πρέπει να είναι ήρεμο, και να αποφεύγεται κάθε θόρυβος που μπορεί να του προκαλέσει stress δεδομένου ότι κάτι τέτοιο μπορεί να επηρεάσει την έκβαση του πειράματος. Πολύ σημαντική είναι η σωστή προετοιμασία της περιοχής που πρόκειται να διενεργηθεί η χειρουργική παρέμβαση και που περιλαμβάνει την αφαίρεση του τριχώματος του τρωκτικού, την εφαρμογή αντισηπτικού διαλύματος (χειρουργικά scrub) και την τοποθέτηση χειρουργικής οθόνης. Ανάλογα με τη διάρκεια της παρέμβασης, θα πρέπει να υπάρχει μέριμνα για την διατήρηση της θερμοκρασίας σώματος του ζώου (τοποθέτηση ειδικών θερμαινόμενων υποστρωμάτων για τρωκτικά) καθώς επίσης και η προεγχειρητική χορήγηση υγρών στο πειραματόζωο. Οι οφθαλμοί του ζώου θα πρέπει να προστατευθούν από την ξηρότητα, με την εφαρμογή κατάλληλης κρέμας.

Η προετοιμασία του ερευνητή και των ατόμων που θα διενεργήσουν την χειρουργική παρέμβαση είναι αναπόσπαστο κομμάτι της διαδικασίας. (2-5)

Καθεαυτή χειρουργική διαδικασία

Κατά τη διάρκεια της χειρουργικής παρέμβασης, πέρα από τον ερευνητή, απαραίτητη κρίνεται η παρουσία κτηνιάτρου και νοσηλεύτη των ζώων εργαστηρίου για την εισαγωγή της αναισθησίας, την διατήρηση αυτής, την χορήγηση αναλγησίας και μυοχάλασης και την συμβολή στην εκτέλεση χειρουργικών τεχνικών. Ανάλογα με τη φύση της μελέτης, πολύ συχνά απαιτείται η παρουσία ειδικευμένου ιατρού (πχ αγγειοχειρουργού, νευροχειρουργού).

Οι χειρισμοί των ιστών κατά τη διάρκεια της παρέμβασης θα πρέπει να είναι ήπιοι για την αποφυγή πρόκλησης τραυματισμών. Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δίνεται στις απολινώσεις των αγγείων ενώ θα πρέπει να αποφεύγεται κάθε πιθανότητα επιμόλυνσης του χειρουργικού πεδίου. Ανάλογα ράμματα, απορροφήσιμα ή μη χρησιμοποιούνται ανάλογα με την περιοχή (δέρμα, μαλακοί ιστοί). Φυσικά, διαρκώς θα πρέπει ο έλεγχος των ζωτικών λειτουργιών του ζώου (καρδιακή λειτουργία, αναπνοή) καθώς και να διερευνάται η αναγκαιότητα χορήγησης υγρών.

Η λεπτομερής καταγραφή των μετρήσεων της μελέτης, κατά τη διάρκεια της χειρουργικής πράξης είναι πρωταρχικής σημασίας για την συνολική αξιοποίηση των αποτελεσμάτων της έρευνας.(3-5)

Μετεγχειρητικά

Η ολοκλήρωση της χειρουργικής διαδικασίας, ακολουθεί με την μετεγχειρητική παρακολούθηση του μελετούμενου ζώου, την ομαλή ανάνηψή του, την ενδεχόμενη χορήγηση αντιβιοτικών και αναλγητικών παραγόντων και φυσικά την καταγραφή των επιπλοκών.

Πολύ σημαντική είναι η χορήγηση ισότονων διαλυμάτων για την αποκατάσταση των υγρών (πχ υποδόρια χορήγηση σε μύες) καθώς και η προσπάθεια διατήρησης θερμοκρασίας του ζώου.

Η παρατήρηση του ζώου για την αίσθηση του πόνου είναι πολύ σημαντική τις επόμενες ώρες αλλά και ημέρες της επέμβασης. Ο πόνος μπορεί να οδηγήσει σε ανορεξία, μειωμένη πρόσληψη νερού, μείωση grooming και ακάθαρμο τρίχωμα του ζώου, ανησυχία, επιθετική συμπεριφορά, τρόμο κλπ. Το επόμενο χρονικό διάστημα θα πρέπει να καταγράφεται τέλος η δραστηριότητα των ζώων, η πρόσληψη τροφής, το σωματικό τους βάρος και οποιαδήποτε μη φυσιολογικό κλινικό σημείο. (2,5)

Βιβλιογραφία

1. Hartung T: Comparative analysis of the revised Directive 2010/63/EU for the protection of laboratory animals with its predecessor 86/609/EEC - a t4 report. ALTEX. 27:285-303, 2010.
2. <http://web.jhu.edu/animalcare/procedures/survival-rodents.html>
3. Waynworth HB, Flecknell PA: Experimental and surgical techniques in the rat. 2nd edition. Academic Press, London, 1994.
4. Hoogstraten-Miller SL, Brown PA: Techniques in aseptic rodent surgery. Curr Protoc Immunol. Chapter 1:Unit 1.12.1-1.12-14, 2008.
5. Brown MJ, Pearson PT, Tomson FN: Guidelines for animal surgery in research and teaching. AVMA Panel on Animal Surgery in Research and Teaching, and the ASLAP (American Society of Laboratory Animal Practitioners). Am J Vet Res. 54:1544-59, 1993.