



ONKOLOŠKI  
INŠTITUT  
LJUBLJANA

INSTITUTE  
OF ONCOLOGY  
LJUBLJANA

# Kirurški posegi v onkoloških predkliničnih raziskavah

Simona Kranjc

Oddelek za eksperimentalno onkologijo

# Kirurški posegi

## Metoda dorzalnega okna

- Opazovanje normalnih in tumorskih žil z intravitalno mikroskopijo pri miših.
- na hrbtni kirurško namestimo okvir iz titana, ki objema dve plasti kože. V eni izmed plasti kože je izrezana luknja, ki omogoča vizualni dostop do žilja in tkiva druge plasti kože, v kateri lahko raste tumor.
- uporabno 2 – 3 tedne, potem pa se začne regeneracija tkiva v oknu.

- zmeren poskus
- do 20 minut

O

## Ekscizija tumorja in spremljanje metastaz

- Opazovanje učinka različnih terapij na izrast zasevkov pri miših.
- Pri tej metodi je induciran podkožni tumor na hrbtni ali bočni strani miši, ki ga kirurško izrežemo skupaj s kapsulo, podkožjem in kožo.
- Ob popolni odstranitvi tumorja lahko izrast zasevkov pričakujemo v 1 – 3 tednih, odvisno od hitrosti rasti izbranega tumorskega modela.

- zmeren poskus
- do 10 minut

## Metoda celjenja ran

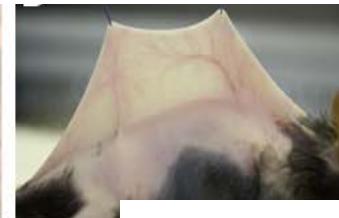
- Opazovanje hitrosti celjenja ran ter s tem uspešnost antiangiogenih terapij.
- V primerjavi s klasično metodo vzpostavitve ran, rano fiksiramo s silikonskim obročem, ki prepreči hitrejše celjenje ran zaradi kontrakcije kože.
- Celjenje spremljamo do 14 dne oz. tudi dlje po potrebi.

- zmeren poskus
- do 10 minut

# Kirurški posegi

## Metoda dorzalnega okna

### 1. Priprava živali in namestitev dorzalnega okna



### Ekscizija tumorja in spremljanje metastaz

#### 1. Izrez tumorja



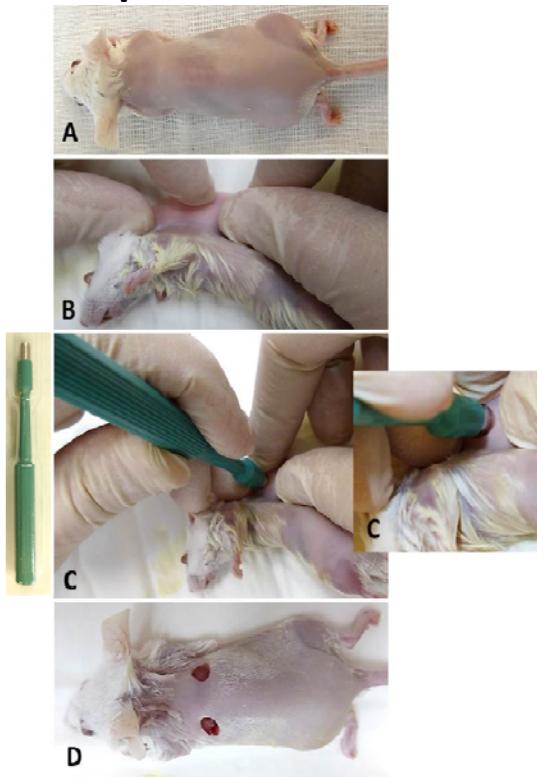
#### 2. Čiščenje rane



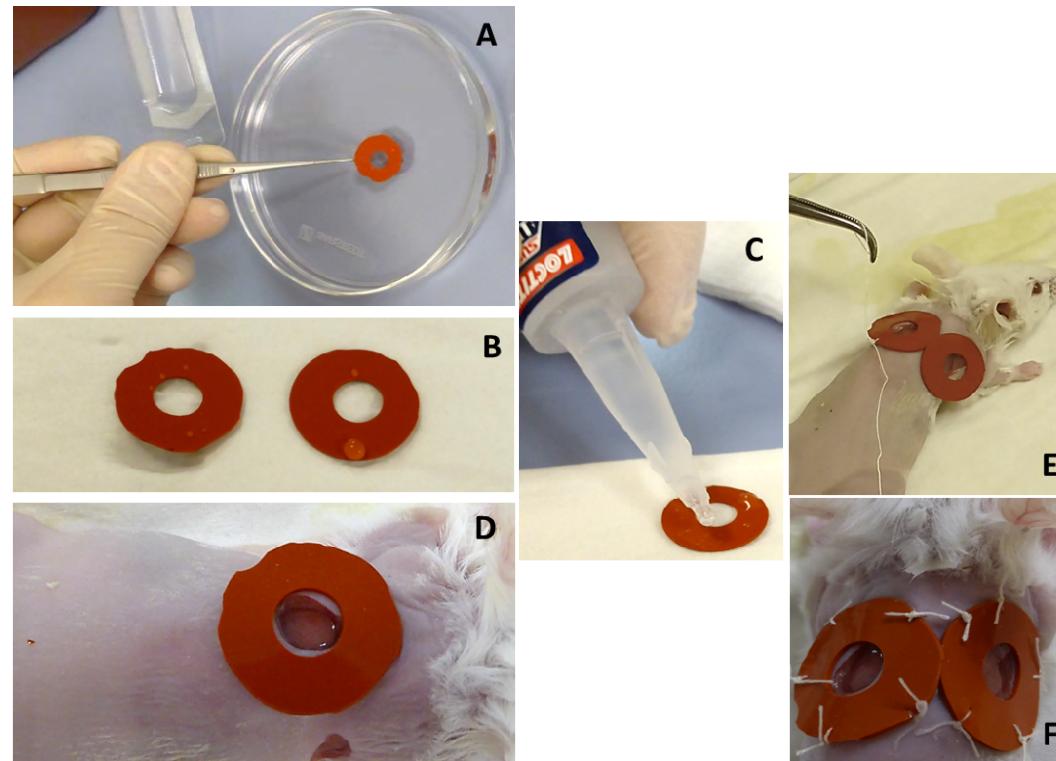
#### 3. Oskrba rane

## Metoda celjenja ran

### 1. Vzpostavitev rane



### 2. Namestitev in fiksacija silikonskega obroča



### 3. Prekrivanje rane



O

# Nega pred operacijo

## Kirurška anestezija:

- dolgo delujoča anastezija (zaspijo po 5 minutah, drži 90 min, zbijanje do 3 ur)
- mešanica:

**1 mg/ml ketamin;** Narketan (ali Bioketan) 10; Vetoquinol AG, Ittigen, Švica

**5 mg/ml ksilazin;** Chanazine; Chanelle Pharmaceuticals Manufacturing Ltd, Loughrea, Irska

**0,4 mg/ml acepromazin;** Promace ; Boehringer Ingelheim, St. Joseph, ZDA

- Intraperitonealna aplikacija glede na težo živali:

Teža miši (g)	Mišja linija			
	C57BL/6	SKH1	BALB/c	SCID
< 17,5	NE!	NE!	NE!	80 µl
17,5 – 18	60 µl	60 µl	65 µl	85 µl
18,1 – 18,5	65 µl	65 µl	65 µl	90 µl
18,6 – 19,5	70 µl	70 µl	70 µl	95 µl
19,6 – 20,5	80 µl	80 µl	75 µl	100 µl

Doza:  
4.7 mg/kg ketamin  
23.6 mg/kg ksilazin  
1.9 mg/kg acepromazin

Doza:  
3.3 mg/kg ketamin  
16.7 mg/kg ksilazin  
1.3 mg/kg acepromazin

- **Britje** (brivnik Wahl) in **depilacija** (depilacijska krema Veet)
- **Razkuževanje** kirurškega polja na miši (z jodovo raztopino Braunoderm (B. Braun Melsungen AG, Nemčija) ali 70% etanolom), ki ga osušimo s sterilno gazo, da se žival ne podhladi
- **Termorekulacija:** uporaba grelnih blazin (FIR Therapeutic Pad, MHP-E1220), segretega gela, pokrivanje depiliranega področja z gazami
- Zaščita oči z umetnimi solzami (Visimed gel, TRB Chemedica, Geneva, Švica)



# Nega med operacijo

- primerna temperatura v prostoru (22-23°C)
- rektalno merjenje temperature (TCU 035,27S, Cheshire, UK)
- termoreguacija: uporaba grelnih blazin (FIR Therapeutic Pad, MHP-E1220) ali gelov, ki jih segrejemo



- zaščita oči z umetnimi solzami (Visimed gel, TRB Chemedica, Geneva, Švica)

# Nega po operaciji

- Šive namažemo z bivacinom (Bivacyn mazilo, Lek d.d., Ljubljana, Slovenija).
- Dorzalno okno očistimo s fiziološko raztopino.
- Rano prekrijemo s Tegaderm vodooodpornim prosojnim obližem.
- Skozi Tegaderm injiciramo nad rano fiziološko raztopino (prvi in drugi dan oz. po potrebi).
- **analgezija:**
  - Injiciranje v tibialno mišico obeh zadnjih okončin, v vsako po 25 µl
  - **butorfanol 0,3 mg/kg** (Torbugesic, Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, Iowa, ZDA)
- **ogrevanje** (prostor ogret 22°-23°C, dodatno ogrevanje živali z IR lučko)
- **Nastanitev miši**
  - Pokrijemo telo živali s staničevino
  - Kletka z večjo količino stelje
  - Namočena hrana v petrijevki (hidracija)
- **Opazovanje** živali med prebujanjem in še vsaj 2 uri zatem na dan posega, ko so že budne (gibanje, telesna temperatura)
- po 24 in 48 h ponovna aplikacija analgetika. Postopek ponovimo tudi po 48 h glede na počutje živali.
- po 24 h ponovna apliciramo bivacin na šive oziroma rano. Postopek ponovljamo več dni zapored, če je to potrebno.

O

# Opazovanje in beleženje bolečine

Vsakodnevno spremjanje splošnega počutja živali:  
spremljanje telesne teže (konzumiranje vode in hrane), gibanje, drža, barva dlake

## Klinično opazovanje/ocenjevanje

Znak	Opis	Ocena
Oglašanje	Ni oglašanja	0
	Izzvano oglašanje med ravnanjem z živaljo	1
	Neizzvano oglašanje, povezano z bolečino	2
Aktivnost	Interakcija z vrstniki, normalno gibanje in obnašanje, radovednost, odzivnost, normalni izzvani vzorci obnašanja (pobeg ob približanju)	0
	Prekinitev dejavnosti, skromen vedenjski vzorec, tudi če je izvan, zmanjšano uživanje hrane in vode	1
	Neodzivna, zaspana, neuživanje hrane in vode	2
Izgled kožuščka	Svetleč, gladek kožušček	0
	Svetleč kožušček, delna piloerekcija	1
	Nesvetleč, nagrbančen kožušček, pilorekacija	2
Dehidracija	Normalna napetost kože	0
	Zmanjšana napetost kože (ostane kožna guba)	1
Navezovanje stikov	Normalno	0
	Zmanjšano, neočiščen analni predel	1
	Ni navezovanja stikov, neočiščen analni del in zagozditev fecesa	2
Gibanje	Spontano gibanje, ni gibanja med spanjem, po odprtju kletke ali izzvano gibanje	0
	Počasnejše gibanje	1
	Gibanje le, če je izzvano, opotekajoče, težavno, prisiljeno	2
	Ni gibanja	HKT
Drža	Normalna	0
	Občasno zgrbljena	1
	Zgrbljena, deloma vstran-asimetrična	2
Telesna teža	≤10% maks. teže	0
	11-15% maks. teže	1
	16-20% maks. teže	2
	≥20% maks. teže	HKT

Ko je seštevek 8 se izvede humana končna točka, usmrтitev živali.

Ocena	Ukrepi
2	Pogosteјše opazovanje, dodatki za dobrobit
4	Dodatna oskrba živali; infuzija, dezinfekcija, analgetik
6	Posvet z veterinarjem
8	<b>HKT, usmrтitev živali.</b>

# Morebitni zapleti

- Če kirurška anestezija ni dosežena v 5 minutah, dodamo 20 µl pripravljene mešanice anestezije (ponovimo največ 2x).
- Prebujanje živali med postopkom: dodamo še 20 µl mešanice anestezije (ponovimo največ 2x), apliciramo analgetik (50 µl, 0.3 mg/kg butorfanol)
- Če živali pade temperatura pod normalno (36.5°C) povečamo temperaturo grelne blazine oziroma jo ogrejemo z IR lučko
- Neuživanje hrane, vode: injiciranje 500 µl glukoze (5%) pripravljene v fiziološki raztopini intraperitonealno 1×dan
- Če žival ne okreva jo humano usmrtimo

**Metoda dorzalnega okna**

**Metoda celjenja rane**

**Ekscizija tumorja in spremljanje metastaz**

} Analgetik žival potrebuje največ do 3 dni  
Nego žival potrebuje največ do 5 dni

**Izvajalec poskusa dnevno spremlja in beleži počutje živali ter o tem seznaní vodjo poskusa.**

**Če prihaja do zapletov po operaciji (neokrevanje...) se posvetujeta izvajalec in vodja poskusa z z veterinarjem.**

**Vodja poskusa in strokovnjak za dobrobit živali odločata o tem kdaj žival ne potrebuje več dodatne nege.**

O