

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Wpływ stymulacji zespolenia nerwowego prądem o niskim natężeniu na poprawę przewodzenia impulsu nerwowego przez zespolenie
2. Czas trwania projektu **01.08.2018–01.05.2020**
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów):

Publikacje naukowe były wyszukiwane w języku angielskim stosując następujące słowa kluczowe: elektryczna stymulacja nerwów mikrochirurgia (ang. *electrical nerve stimulation microsurgery*), bezpośrednia elektryczna stymulacja nerwów regeneracja (ang. *direct electrical nerve stimulation regeneration*), rekonstrukcja nerwów elektryczna stymulacja (ang. *nerve reconstruction electrical stimulation*).

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **B**

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Do przecięcia nerwów u ludzi dochodzi w wyniku urazów, w tym przecięcia narzędziami tnącymi lub w wyniku wypadków komunikacyjnych. Niekiedy przecięcie nerwu jest konieczne podczas operacji (np. wycinając guz nerwu lub guz nowotworowy naciekający nerw). Niestety wyniki pooperacyjne nie zawsze są zadowalające dla pacjentów, dochodzi między innymi do zaniku mięśni i problemów z poruszaniem kończyną. Dlatego istnieje konieczność poszukiwania nowych rozwiązań, które zmniejszą kalectwo u ludzi, po szyciu nerwów. Takim rozwiązaniem może okazać się zastosowanie generatora impulsów elektrycznych.

Celem projektu jest zbadanie, czy wszczepienie stymulatora i stałe pobudzanie nerwu po szyciu, poprawi jego regenerację, co zapobiegnie zanikom mięśni i umożliwi prawidłowe poruszanie kończyną.

Po okresie dwutygodniowej adaptacji zwierząt, mającej na celu oswojenie szczurów z obecnością ludzi, zwierzęta będą poddane procedurze doświadczalnej. Po znieczuleniu oraz upewnieniu się, że zwierzęta są w pełni nieświadome i nie będą odczuwały bólu nacinana będzie skóra (około 2 cm) na grzbietowej stronie ud lewej i prawej kończyny tylnej każdego z 12 szczurów. Po odsłonięciu obu nerwów kulszowych, nastąpi przecięcie obu nerwów kulszowych oraz ich szycie. Dodatkowo pod skórą prawej kończyny umieszczony zostanie generator

impulsów elektrycznych wraz z kablem, który będzie dotykał nerwu kulszowego. Kończyną badaną będzie prawa kończyna tylna, a kontrolną lewa kończyna tylna. Badacze w swojej codziennej pracy klinicznej stymulują nerwy u ludzi prądem elektrycznym, o takich samych parametrach, jak podane w tym projekcie. Pozwala to badaczom wykonać czynności z należytą starannością, podejrzewając, że nie wywołają nadmiernego cierpienia i bólu u zwierząt. Po czterech tygodniach od zabiegu nastąpi sprawdzenie, które nerwy uległy lepszej regeneracji. Sprawdzenie to nastąpi za pomocą badania elektromiograficznego (EMG). Badanie EMG odbywa się na zasadzie „miernika elektrycznego” używanego przez elektryków. Badanie to polega na dotknięciu nerwu elektrodą stymulującą prądem elektrycznym. Na ekranie monitora wyświetlany będzie czas i napięcie impulsu elektrycznego, który dotarł do elektrody odbiorczej. U ludzi badanie to wykonywane jest bez znieczulenia np. podczas diagnostyki Zespołu Kanału Nadgarstka.

Badania mają charakter translacyjny, zastosowanie takiego generatora impulsów u ludzi, może potencjalnie zmniejszyć kalectwo związane z przecięciem i urazami nerwów. Przewidywane szkody u zwierząt obejmują stres związany z podaniem znieczulenia ogólnego przed rozpoczęciem doświadczeń. Niemniej wszystkie czynności w poszczególnych procedurach zostały zaplanowane z jak najmniejszą inwazyjnością oraz został przedstawiony szczegółowy opis zasad: zastąpienia, ograniczenia, udoskonalenia, które w największej dokładności eliminują prawdopodobieństwo wystąpienia szkód.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu wykorzystane zostaną samce szczurów (*Rattus norvegicus*) stado niekrewniacze Wistar (12 osobników) o masie około 250-300 g.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam/sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

__EBSCO; __x_PUBMED; __x_Google Scholar; __AGRICOLA; __ScienceDirect; __Web of Science (JCR);
Wykorzystałam/emsłowa kluczowe: **electrical nerve stimulation surgery, electrical nerve stimulation microsurgery, direct electrical nerve stimulation regeneration, nerve reconstruction electrical stimulation**

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: wnioski zostaną opublikowane po wykonaniu doświadczenia.

B. Brak jest danych, lub też dane są mało wiarygodne lub nie są sprawdzone w zakresie: bezpośredniej stymulacji nerwów prądem elektrycznym w celu poprawy regeneracji zespoleń nerwowych.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze lub ugruntowanie istniejącej wiedzy w kierunku

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na: poprawie skuteczności leczenia po uszkodzeniu nerwów przez zastosowanie generatora impulsów elektrycznych

W badaniach będzie realizowana zasada 3 R: zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia.

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Zasada zastąpienia. Wykorzystanie szczurów w doświadczeniu jest konieczne, ponieważ zastąpienie ich metodami *in vitro* (hodowle komórkowe i tkankowe) lub zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego nie jest możliwe. Dla przeprowadzenia badania niezbędne są naturalne procesy gojenia oraz przewodzenia impulsów nerwowych. Zjawiska te występują tylko u żywych organizmów. Zrezygnowano z wyżej zorganizowanych ssaków (np. kotów). Szczury wykazują dobrą tolerancję na procedury chirurgiczne, gojenie u królików przebiega szybko co pozwala na skrócenie czasu doświadczenia. Przeprowadzający badanie mają doświadczenie w przeprowadzaniu procedur chirurgicznych u szczurów. Dotychczas nie zaproponowano innego, równie efektywnego i precyzyjnego modelu, który zastąpiłby ocenę zaplanowanego działania *in vivo*.

Zasada udoskonalenia. Zwierzęta doświadczalne będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla swego gatunku i będą oszwajane z osobami wykonującymi procedury i niektórymi czynnościami. Zastosowane będą elementy wzbogacające środowisko. Podczas całego eksperymentu zwierzęta będą obserwowane przez weterynarza i zespół ds. dobrostanu zwierząt, aby jak najwcześniej stwierdzić ewentualne objawy bólu i cierpienia. Procedury będą wykonywane przez doświadczony i przeszkolony personel. Wszystkie procedury będą przeprowadzane w warunkach sterylnych co będzie wpływało na komfort zwierząt poddanych procedurze. Zwierzętom w trakcie doświadczenia podawane będą środki znieczulające (buprenorfina), a doświadczenie zaplanowano tak, aby minimalizować do minimum ból, cierpienie i dystres zwierząt. Czynności związane ze dostępem operacyjnym do nerwów kulszowych, ich szyciem, badaniem EMG były wykonywane w poprzednim naszym badaniu. Pozwoliło to na zdobycie doświadczenia w wykonywaniu tych czynności. Dodatkowo badacze są chirurgami z wieloletnim doświadczeniem zawodowym. Pozwala to na ograniczenie czasu wykonywania czynności i dystresu zwierząt do minimum. Badacze w swojej codziennej pracy klinicznej wykonują badanie EMG u ludzi, stymulując nerwy prądem elektrycznym, o taki samych parametrach jak podane w tym projekcie. Pozwala to badaczom wykonać czynności z należytą starannością, podejrzewając, że nie wywołają nadmiernego cierpienia i bólu u zwierząt. Ograniczono czas trwania doświadczenia do sześciu tygodni (dwa tygodnie aklimatyzacja i handling oraz cztery tygodnie po zabiegu) Na podstawie danych z piśmiennictwa stwierdzono, że regeneracja nerwu trwa do 4 tygodni po zabiegu (1,2), czas trwania procedury ograniczono do niezbędnego minimum.

Zasada ograniczenia. W doświadczeniu zostanie wykorzystana minimalna liczba zwierząt (n=12) niezbędna do uzyskania wiarygodnych wyników z uwzględnieniem zmienności osobniczej oraz zróżnicowania oznaczanych parametrów. Do badania wybrano samce ponieważ są większe niż samice, u większych zwierząt łatwiej będzie można umieścić generator impulsów. Liczba zaplanowanych zwierząt jest niezbędna i pozwoli uzyskać wiarygodne wyniki przy pomocy standardowych obliczeń statystycznych (test t dla prób niezależnych) przy założeniu prawdopodobieństwa na poziomie $p < 0.05$. Użycie mniejszej liczby zwierząt mogłoby spowodować niepowodzenie całego doświadczenia i konieczność jego powtórzenia. Ponadto nie zaplanowano odrębnej grupy kontrolnej zwierząt, jako kontrolę wykorzystano lewą kończynę tylną zwierząt z badanej grupy.

Piśmiennictwo:

1. Israel JS1, Esquibel CR1, Dingle AM1, Liu Y1, Keikhosravi A1, Pisaniello JA1, Hesse MA1, Brodnick SK1, Novello J1, Krugner-Higby L1, Williams JC1, Eliceiri KW1, Poore SO1. Quantification of Collagen Organization after Nerve Repair. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2017 Dec 11;5(12):e1586.
2. Saffari TM1, Schüttenhelm BN2, van Neck JW2, Holstege JC1. Nerve reinnervation and itch behavior in a rat burn wound model. *Wound Repair Regen*. 2018 Jan;26(1):16-26.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ **NIE**

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.