

Łukasz MAŃKA, Marek GZIK Katedra Mechaniki Stosowanej, Politechnika Śląska, Gliwice

Wojciech ŚLUSARCZYK, Wiesław MARCOL, Karolina KOŁODZIEJCZYK Katedra Fizjologii, Śląska Akademia Medyczna, Katowice

BADANIA EKSPERYMENTALNE MONITORUJĄCE POSTĘP REGENERACJI RDZENIA KRĘGOWEGO W OŚRODKOWYM UKŁADZIE NERWOWYM U SZCZURÓW

Streszczenie. W pracy przedstawiono badania prowadzone przez inżynierów oraz lekarzy w celu odpowiedniego zaprojektowania urządzenia do monitorowania postępu regeneracji rdzenia kręgowego w ośrodkowym układzie nerwowym u szczurów. Zaprojektowane urządzenie ma na celu wspomaganie badań w aspekcie regeneracji uszkodzonego w sposób mechaniczny rdzenia kręgowego.

1. WSTĘP

W ostatnich kilku latach w centrum zainteresowań naukowców z całego świata jest poznanie i zrozumienie mechanizmu urazu rdzenia kręgowego. Ma to istotne znaczenie w badaniach nad przywróceniem funkcji uszkodzonych struktur. Jest to jedno z poważniejszych wyzwań stojących przed współczesną medycyną. Uszkodzenie rdzenia kręgowego to jedno z największych nieszczęść, jakie może się przytrafić każdemu z nas. Skutkuje to niedowładami, porażeniami, zaburzeniami czucia powierzchownego i głębokiego, zaburzeniami pracy układu autonomicznego, itd. Z wszystkimi tymi bardzo ciężkimi schorzeniami człowiek musi walczyć już do końca swojego życia. W związku z coraz szybszym rozwojem techniki, a co za tym idzie zagrożeniami dla bardzo delikatnego odcinka szyjnego kręgosłupa ilość urazów rdzenia kręgowego gwałtownie rośnie. Zagadnienie to nabiera szczególnego znaczenia ze względu na wiek chorych, często nieprzekraczający 25 lat (55% < 25lat) oraz na skutki ekonomiczne i społeczne długotrwałego i kosztownego leczenia. Do niedawna sądzono, że OUN nie ma możliwości regeneracji. Obecnie przełom dokonujący się w naukach medycznych i biologii molekularnej pozwala na wywołanie regeneracji neuronów ośrodkowych, a tym samym daje ogromne nadzieje i szanse ludziom po urazie OUN, w tym rdzenia kręgowego. Na świecie jest wiele ośrodków badawczych, które działając w oparciu o nowe technologie dają szanse na przełom w leczeniu urazów rdzenia kręgowego. Również Śląska Akademia Medyczna w Katowicach z pomocą Politechniki Śląskiej w Gliwicach prowadzi takie badania. Głównym celem tych badań jest znalezienie skutecznej metody regeneracji tkanki nerwowej, która wcześniej została uszkodzona.

Dynamiczny postęp w elektronice, technice cyfrowej i komputerowej spowodował szerokie zastosowanie tych technologii w medycynie. W diagnostyce lekarskiej zapotrzebowanie na te przyrządy, urządzenia i aparaty jest coraz większe. Również w

badaniach przeprowadzanych na szczurach są potrzebne takie urządzenia, które dostarczałyby szczegółowych informacji na temat osiągniętych rezultatów badań.

W pracy przedstawiono badania mające na celu odpowiednie zaprojektowanie urządzenia do monitorowania postępu regeneracji rdzenia kręgowego.

2. BADANIA WSTĘPNE

Aby zaprojektowane urządzenie spełniało oczekiwane założenia projektowe przeprowadzono szereg badań zachowania się oraz poruszania badanych szczurów w układzie badawczym.

Ze względu na zróżnicowany rozmiar badanych szczurów oraz różny stopień urazu rdzenia kręgowego urządzenie powinno być uniwersalne, umożliwiające przebadanie szczurów każdej wielkości. Celem badań było:

- dobranie odpowiednich wymiarów urządzenia oraz rozmieszczenie czujników tak, aby urządzenie było jak najbardziej uniwersalne i efektywne,
- dokładna analiza sposobu stawiania stóp kończyn dolnych szczura.

Badaniom poddano dziesięć szczurów. Wykorzystano dwie ścieżki chodu (rys. 1). Pierwszą był tor o przekroju prostokąta – rura prostokątna, której wymiary wynosiły: długość 1000 mm, szerokość 100 mm, a wysokość 80 mm. Ponadto zastosowano w nim schody. Natomiast drugi tor o przekroju kołowym, którego wymiary wynosiły: długość 500 mm, średnica 80 mm, a wysokość od podstawy 63 mm. Na dnie jego powierzchni zastosowano tzw. „Footprinty” – podłużne paski papieru milimetrowego, po których poruszał się szczur, którego stopy wcześniej zostały zamoczone w tuszu.



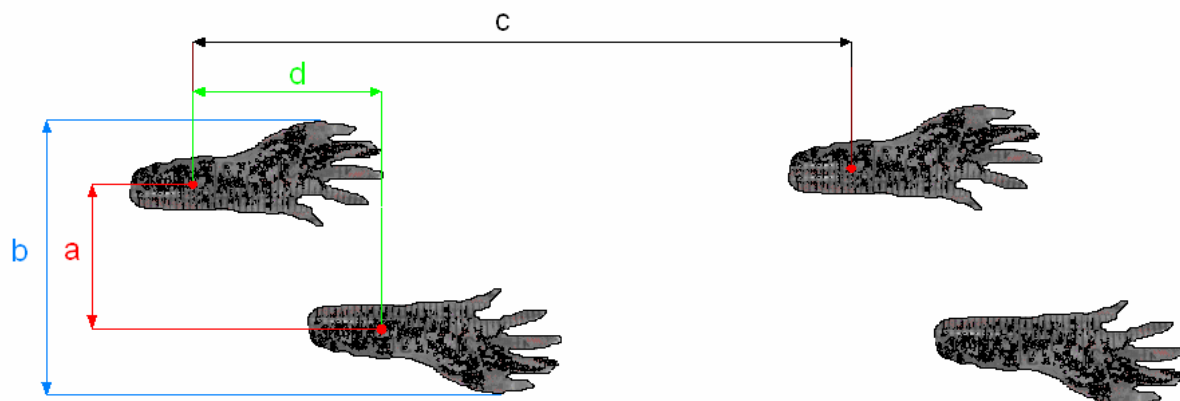
Rys. 1. Tor o przekroju prostokąta po lewej i o przekroju kołowym po prawej



Rys. 2. Pomiar stop kończyn dolnych szczura

Średnia wartość długości kończyn dolnych szczura wynosi ok. 44 [mm]. Szerokość stopy kończyn tylnych z „pazurami” 15 [mm], natomiast szerokość stopy kończyn tylnych „w pięcie” wynosi 5 [mm]. Przeciętną wielkość stopy kończyny dolnej szczura możemy zauważyć na rys. 2.

Na rys. 3 ukazane są odległości: a, b, c i d, które zostały zmierzone wśród dziesięciu badanych szczurów.



Rys. 3. Graficzna reprezentacja zmierzonych wielkości a, b, c i d na dolnych kończynach szczura, gdzie a – odstęp pomiędzy dolnymi kończynami szczura, b – długość pomiędzy najbardziej wysuniętymi palcami na zewnątrz prawej i lewej tylnej kończyny, c – długość jednego kroku, d – odstęp pomiędzy położeniem prawej i lewej kończyny dolnej

W poniższych tabelach przedstawione są uśrednione wyniki tych wielkości.

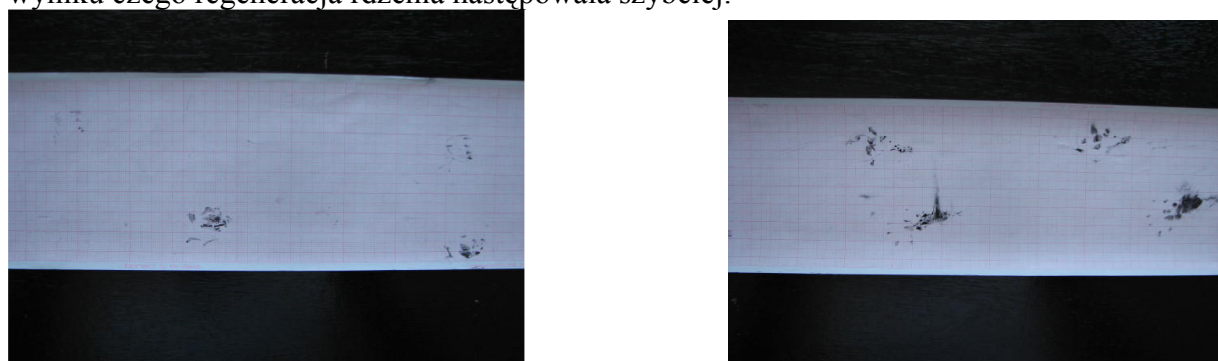
Tabela 1. Uśrednione wielkości długości a, b, c i d w dolnych kończynach szczura

Oznaczenie szczura	Data badania	Długość a [mm]	Długość b [mm]	Długość c [mm]		Długość d [mm]
				Lewa kończyna	Prawa kończyna	
S6	15.02.07.	44,2	66,2	116,5	122,5	31,4
S6	01.03.07.	49	69,5	133,3	140,0	36,5
S7	15.02.07.	40,8	60,5	90,0	94,7	35,4
S7	01.03.07.	44,4	66,8	108,3	99,8	37,0
S9	15.02.07.	48,2	68,2	122,8	120,5	34,2
S9	01.03.07.	50,0	72,6	127,5	115,5	36,2
S10	15.02.07.	46,5	67,9	130,5	120,0	32,5
S10	01.03.07.	48,5	68,8	136,7	130,7	34,8
S11	15.02.07.	48,3	68,3	103,3	91,7	33,4
S11	01.03.07.	51,8	75,6	123,0	126,3	36,6
S12	15.02.07.	52,4	78,2	111,0	87,0	39,3
S12	01.03.07.	50,0	72,3	115,0	118,8	41,5
S13	14.02.07.	53,5	69,5	87,5	96,3	36,0
S13	15.02.07.	58,3	78,3	86,3	93,8	38,5
S13	01.03.07.	75,3	90,5	105,0	85,0	46,0
S14	15.02.07.	48,8	70,2	131,8	111,3	30,5
S14	01.03.07.	51,5	71,8	121,3	111,7	33,0
S15	14.02.07.	44,7	64,0	137,5	127,5	35,5
S15	15.02.07.	49,0	73,0	102,3	90,5	33,0
S15	01.03.07.	65,0	84,6	120,0	130,0	35,0

Tabela 2. Tabela przedstawia całkowite średnie długości a, b, c i d oraz wartości minimalne i maksymalne tych wielkości

	Długość a [mm]	Długość b [mm]	Długość c [mm]		Długość d [mm]
			Lewa kończyna	Prawa kończyna	
Całkowita średnia	51,2	72,0	114,7	110,2	35,8
Wartość minimalna	31	55	35	50	30,5
Wartość maksymalna	81	95	170	160	46,0

Ponadto celem tych badań było ukazanie regeneracji rdzenia kręgowego uwidocznioną poprzez poprawę chodu u szczura. Po prawostronnym uszkodzeniu mechanicznym rdzenia kręgowego a następnie natychmiastowym podaniu dootrzewnowo N-acetylocysteiny lub Nikotyny, które działają, neuroprotekcynie, możemy zauważyć (rys. 4) ewidentną różnicę w stawianiu prawej stopy szczura na powierzchnię papieru milimetrowego. Na lewym rysunku widać, że szczur ma problemy ze stawianiem stopy prawej – słabo widoczny „Foot-print”, oznacza to, iż ciągnie bezwładną kończynę za sobą. Natomiast po dwóch tygodniach od podania N-acetylocysteiny lub Nikotyny, widać znaczącą poprawę chodu. Odzyskuje on władzę w prawej kończynie. W badaniach *in vitro* wykazano, iż nikotyna chroniła neurony rdzenia kręgowego przed rozwojem procesów wiodących do śmierci komórkowej. Dzięki temu proces degeneracji kolejnych neuronów w rdzeniu kręgowym uległ zahamowaniu i w wyniku czego regeneracja rdzenia następowała szybciej.



Rys. 4. Badanie chodu u szczura przeprowadzone 15.02.07 po lewej oraz 01.03.07. po prawej

2. BUDOWA URZĄDZENIA

2.1. Założenia projektowe

Przystępując do projektowania zostały sformułowane poniższe założenia:

- możliwość dokonywania kontrolowanych i powtarzalnych badań monitorujących postęp regeneracji rdzenia kręgowego w ośrodkowym układzie nerwowym u szczurów,
- możliwość uzyskania dokładnych wyników,
- możliwość jednoznacznego odczytania uzyskanych rezultatów,
- możliwość podłączenia urządzenia do komputera i zapisywania wyników,
- minimalizacja kosztów urządzenia,
- bezpieczna eksploatacja,
- długoletnia bezawaryjna praca,
- zwarta, wytrzymała i w pełni funkcjonalna konstrukcja.

2.2 Etapy projektowania:

Proces projektowania poprzedzony został wnikliwą analizą funkcjonalnych potrzeb w relacji z możliwością fizycznej realizacji urządzenia. Na podstawie przeprowadzeniu

dokładnych badań wstępnie opracowano kilka możliwych wariantów aparatury. Po weryfikujących rozważaniach w zespole inżynierów i lekarzy, zdecydowano się stworzyć urządzenie, umożliwiające przeprowadzenie badań chodu szczura przy pomocy czujnika tensometrycznego.

Następnymi etapami było:

- dobranie elementów (właściwy wybór czujnika siły i wzmacniacza sygnału),
- zaprojektowanie i wykonanie układu elektronicznego umożliwiającego odczytanie i przesłanie sygnału z czujnika do komputera,
- wykorzystanie kabla usb,
- oprogramowanie kabla usb,
- napisanie programu umożliwiającego odczytanie informacji przesłanej z urządzenia do komputera.

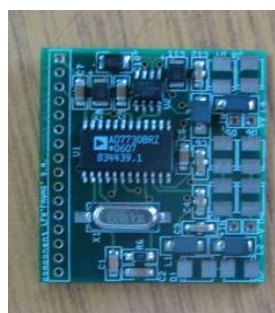
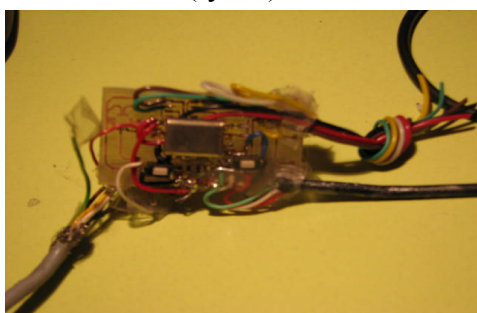
Podczas doboru elementów kierowano się bardzo dużą dokładnością wymaganą podczas tego rodzaju zabiegów. Aparatura musiała być w stanie bardzo dokładnie określić siłę nacisku kończyny dolnej na podłoże. Aby to zapewnić zastosowano elektronikę cyfrową wag laboratoryjnych, dającą możliwość uzyskania wyników pomiaru masy z dokładnością do 0,1 grama. Czas pomiaru odbywa się w zakresie do 1 sekundy.



Rys.6 Czujnik tensometryczny

Problemem, na jaki napotkano był dobór czujnika siły nacisku. Większość tego typu czujników stosowanych jest w calach przemysłowych, wiąże się to z ich wysokim zakresem pomiaru. Dlatego wybór czujników, których dokładność jest w granicach 0,1 – 1 grama jest bardzo trudny, gdyż jest ich mało na rynku. Skutkiem tego cena tego typu czujników jest wysoka. Zaproponowany czujnik (rys. 6) pracuje w zakresie od 0 – 3,5 kg z dokładnością 0,1 grama.

Następnie został dobrany wzmacniacz sygnału oraz zaprojektowany i wykonany mikrokontroler AVR (rys. 7).



Rys. 7. Mikrokontroler AVR po lewej oraz wzmacniacz sygnału po prawej

Mikrokontroler AVR jest oparty o architekturę RISC (procesor o zredukowanej liczbie instrukcji, wykorzystującą wczesne pobranie rozkazu), która umożliwia bardzo wydajną pracę, gdyż większość instrukcji jest wykonywana w jednym cyklu zegara. Składa się on między innymi z takich układów jak: pamięć EEPROM, która może być zapisywana przez

program a jej zawartość nie kasuje się po wyłączeniu zasilania, układy czasowo-licznikowe, interfejs UART, statyczną pamięć RAM i komparator analogowy. Procesor został wyposażony w zestaw 32 rejestrów uniwersalnych, dzięki czemu skompilowany kod wynikowy jest mniejszy gdyż nie zawiera wielokrotnych przesłań danych pomiędzy pamięcią i pojedynczym akumulatorem. Program procesora jest przechowywany w wewnętrznej pamięci typu FLASH, którą programuje się za pomocą interfejsu szeregowego (SPI).

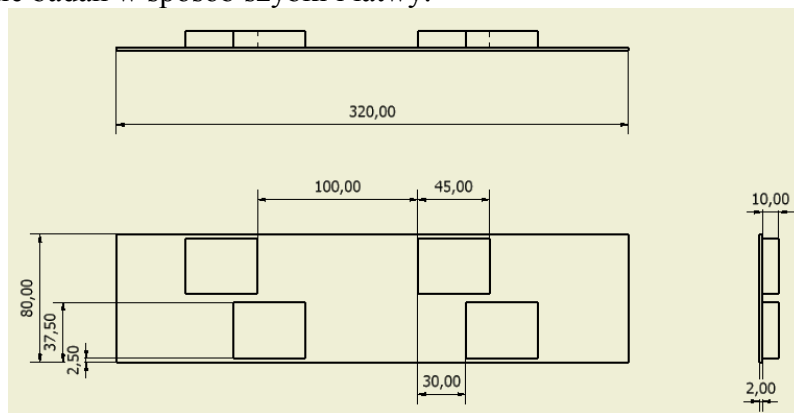
Wzmacniacz sygnału w postaci układu scalonego składa się z przetwornika AD7730BRZY oraz wzmacniaczy operacyjnych OP.

3. WNIOSKI

Badania przeprowadzone w torze o przekroju prostokątnym dostarczyły wstępnych informacji na temat wymiarów urządzenia oraz kształtu i sposobu rozmieszczenia czujników. W wyniku tego znacząco zostały zmniejszone wymiary ścieżki chodu, a czujniki zdecydowano umiejscowić na podwyższeniu, w celu zwiększenia częstotliwości stawiania kończyny dolnej szczura na czujniku. Tor ze schodami ukazał, że zwierzęta te mają trudności z zachowaniem cyklu chodu na tego typu konstrukcji, ponadto potrafią przeskakiwać kilka stopni.

Tor o przekroju kołowym dostarczył szczegółowych danych na temat chodu i stawiania stóp szczura na powierzchnie papieru. Umożliwiło to wiarygodny odczyt wielkości kroku oraz ułatwiło określenie wielkości powierzchni nacisku na czujnik oraz ogólne gabaryty projektowanego urządzenia (rys. 8).

Badanie te także ukazały, że zachowanie szczura bardzo często jest nieprzewidywalne i bardzo trudnym zadaniem jest skonstruowanie urządzenia, które umożliwiłoby przeprowadzenie badań w sposób szybki i łatwy.



Rys. 8. Rozmieszczenie czujników w torze pomiarowym

Urządzenie ma być jednym z elementów powstającej infrastruktury laboratoryjnej do badań nad regeneracją rdzenia kręgowego szczurów w Śląskiej Akademii Medycznej. Autorzy mają nadzieję, iż w niedalekiej przyszłości doświadczenia zdobyte na zwierzętach przyczynią się do powstania skutecznych metod leczenia ludzi po urazach ośrodkowego układu nerwowego.

EXPERIMENTAL RESEARCHES EXAMINING PROGRESS RECOVERY OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM RATS SPINAL CORD

Summary: Experimental researches carried out by engineers and doctors in order to design system to examining progress recovery of central nervous system rats spinal cord are presented in this paper.