

Prof. dr hab. n. med. Teresa Wierzba-Bobrowicz

Warszawa dn. 10.07.2023 rok

Kierownik Zakładu Neuropatologii

Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej lek. Mikołaja Sługockiego

pt. „Ocena endoskopowa i morfometryczna naczyń postawy mózgowia i ich rozwidleń”

napisanej pod kierunkiem promotora : prof. dr hab. n. med. Bogdana Ciszka

oraz promotora pomocniczego : dr n. med. Sylwii Tarki

Podstawą opracowania recenzji jest pismo Wiceprzewodniczącej Rady Dyscypliny Nauk Medycznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego Prof. dr hab. n. med. i n. o zdr. Marty Struga z dnia 26.05.2023 r. w sprawie sporządzenia recenzji rozprawy doktorskiej na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauki medyczne lek. **Mikołaja Sługockiego** pt. „ **Ocena endoskopowa i morfometryczna naczyń podstawy mózgowia i ich rozwidleń**”.

Ocena formalna rozprawy

Pracę napisano w formie opracowania polskojęzycznego, liczącego razem z Oświadczeniem Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym, 123 strony. Monografia ma w większości typowy dla rozpraw układ edytorski: spis treści, następnie nietypowy zbiorczy opis rycin (nie powtarza się go dodatkowo , jeśli pod każdą ryciną w tekście umieszczono dokładny jej opis). Następnie spis używanych skrótów oraz streszczenie w języku polskim i angielskim. Sześć właściwych rozdziałów stanowią: wstęp, założenia i cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusja , wnioski. Dodatkowo praca zawiera piśmiennictwo (według kolejności cytowań) liczące 118 pozycji oraz dodatek stanowiący pięć tablic zawierających zestawienie obrazu makroskopowego, endoskopowego oraz mikroskopowego dla wybranych przypadków badanych w tej rozprawie doktorskiej. Niefortunnie nie dołączono szczegółowego opisu tablic. Wymieniono jedynie strukturę i lokalizację zmiany, a czytający jest zdany na własną interpretację lub poszukiwanie opisów pod rycinami w tekście.

Spis używanych skrótów wykazuje braki np. nie można odnaleźć skrótu np. z ryc. Nr 20 LPCoA oraz z ryc. 47 RPCA , wiedząc że L to strona lewa a R to prawa. W opisie pod ryciną RPCA to prawa tętnica

tylna mózgu , a w opisie pod ryc. 20, LPCoA to lewa tętnica tylna mózgu. Nie umieszczenie skrótu utrudnia płynne czytanie pracy.

Rozprawa zawiera 47 rycin , 13 tabel oraz pięć tablic. Ryciny zamieszczone w pracy są czytelne, dobrze ilustrują opisywane struktury. Jakość użytego papieru jest dobra a opis wystarczający aby scharakteryzować opisywaną budowę naczyń krwionośnych. Wizualizacja obrazów endoskopowych w zestawieniu z obrazem makroskopowym oraz mikroskopowym stanowi o unikatowej wartości tej pracy i może przyczynić się do lepszego zrozumienia procesów hemodynamicznych zachodzących w naczyniach podstawy mózgowia. W tabelach przedstawiono odcinki naczyń, na których dokonano pomiaru ich średnicy, zestawienia średniej ich średnic z wartościami maksymalnymi i minimalnymi oraz ich kwartylami I i III. W Tabeli nr 8 umieszczono obliczoną w procentach, częstość występowania zmian miażdżycowych w poszczególnych badanych tętnicach. Niestety materiał stanowiło tylko 30 preparatów pochodzących od pacjentów zmarłych między 19 a 77 rokiem życia, stanowiąc za dużą rozpiętość wiekową aby wyciągnąć wnioski w powiązaniu z wiekiem pacjenta. Tym niemniej np. jedynie 7% przypadków miażdżycy w próbie pochodzącej z lewej tętnicy przedniej mózgu segmentu A1, może jednak sugerować o rzadszym powstawaniu zmian miażdżycowych w tym miejscu. Użycie tabel do porównania wyników uzyskanych w pracy doktorskiej lek. Mikołaja Sługockiego z wynikami uzyskanymi przez innych badaczy stanowi doskonałą wizualizację przedstawianego zagadnienia. Jedynie pięć tablic opisanych bardzo lakonicznie nie może spełnić swej ilustracyjnie podsumowującej roli.

W Spisie treści tytuły rozdziałów są krótkie i dobrze zapowiadają ich zakres i zawartość. Jedynie rozdział 8 pt. Dodatek, zupełnie nie opisuje co autor w rozdziale umieści , rozpalając w pewnym sensie ciekawość czytającego aby na końcu tej ciekawości nie zaspokoić.

Piśmiennictwo w większości anglojęzyczne (jedynie dwie pozycje w języku polskim) aktualne i dobrze dobrane do treści pracy doktorskiej.

Ocena merytoryczna pracy doktorskiej

1. WSTĘP opisany na 24 stronach, rozpoczyna się
 - 1.1 rysem historycznym badań nad naczyniami podstawy mózgowia. Autor z wielką pasją opisał próby scharakteryzowania układu naczyń znajdujących się na powierzchni podstawnej mózgowia rozpoczynając od Herofilusa z Chalkedonu (335-280 p.n.e), który nazwał tzw. sieć dziwną (*rete mirabile*-sieć tętniczo-tętnicza), odróżniał już tętnice od żył oraz nerwów, ale u zwierząt kopytnych. Zacytował także Herofilusa i Erazistratosa z Keos (310-250 p.n.e.), którzy przeprowadzali już sekcje zwłok ludzkich. Następnie autor zapoznał nas z pracami Galena (129-216) podtrzymującego wiarę w *rete mirabile* . Zmienił jego opisy dopiero w XVI wieku Jacopo Berengario da Carpi (1460-1530), a ugruntował ją Andreas Wesaliusz (1514-1564) . Dalsze opisy opierały się na rzetelnej wiedzy anatomii człowieka. W 1664 roku Thomas Willis dokonał pierwszego kompletnego opisu koła tętniczego mózgu. Kolejne lata przynosiły coraz dokładniejsze opisy oraz nazewnictwo. W XX wieku wraz z postępem neurochirurgii, konieczne stały się szczegółowe opracowania mikrochirurgiczne badające przebieg niewielkich gałęzi naczyń koła tętniczego , których dokonał Albert Rhoton Jr. (1932-2016). Rozwijała się także neuroradiologia interwencyjna, której pionierem był E. Fischer, który w 1938 roku opublikował prace o położeniu przednich tętnic w angiografii.

1.2 Znaczenie koła Willisa dla prawidłowego funkcjonowania mózgu.

W kolejnej części wstępu autor dokonał opisu znaczenia koła Willisa dla prawidłowego funkcjonowania mózgu, podsumowując poglądy dotyczące kompensacyjnej funkcji koła tętniczego mózgu z perspektywy rozwoju ewolucyjnego.

1.3 Kolejny podrozdział dotyczący rozwoju osobniczego naczyń podstawy mózgowia i wynikających z niego wybranych odmian anatomicznych, opracowany został bardzo szczegółowo, omawiając różne etapy i stadia opisywane przez autorów: Streetera (1918-5 etapów), Congdona (1922- stadia wg. Carneglie) i Padgeta (1948- 8 etapów). Wymieniono również klasyfikację zaproponowaną przez Kłosowskiego (1963), która omawia 3 fazy rozwoju naczyń w zależności od sposobu unaczynienia tkanki nerwowej (kolejno, faza przednaczyńkowa, naczyniówkowa oraz mięszkowa). Autor pracy doktorskiej wspominał także o rozwoju naczyń mięszkowych (naczyń przeszywających) w czasie kiedy mechanizm dyfuzji przestaje stopniowo zapewniać wystarczającą ilość tlenu dla rozwijającego się ośrodkowego układu nerwowego.

1.4 W kolejnym podpunkcie wstępu lek. med. Michał Sługocki opisał anatomię prawidłową i przebieg, badanych naczyń podstawy mózgu z częstością występowania zmienności i podziałem na odcinki.

1.5 W ostatniej części wstępu autor napisał o konieczności opracowania budowy wewnętrznej naczyń z uwagi na rozwijające się nowe metody diagnostyczne i terapeutyczne w tym endowaskularną embolizację tętniaków wewnątrzczaszkowych. Jako nieinwazyjną wskazał na metodę – endoskopię, której użył w obecnej rozprawie doktorskiej.

Pewną słabością tej części pracy jest pominięcie rozwoju budowy histologicznej ścian naczyń krwionośnych.

Reasumując, o ile we Wstępie otrzymaliśmy wyczerpujący opis rozwoju makroskopowego naczyń podstawy mózgu, o tyle nie mogliśmy się zapoznać z rozwojem budowy histologicznej poszczególnych warstw ściany naczyń, także mającej wpływ na anatomię wewnątrznacyniową tętnic podstawy mózgowia.

2. Założenia i cel pracy

Cele pracy są jasno sformułowane. Doktorant zaproponował jako główny cel swoich badań endoskopową ocenę anatomii wewnątrznacyniowej tętnic podstawy mózgowia z kompleksowym opisem wewnątrznacyniowych rozwidleń, napotkanych patologii i struktur w ich świetle oraz wygląd ścian naczyń. Badaniem miała zostać także objęta makroskopowa ocena budowy zewnętrznej naczyń oraz pomiary wybranych parametrów morfometrycznych jako uzupełnienie badań endoskopowych oraz ocena histologiczna znalezionych w badaniu endoskopowym struktur wewnątrznacyniowych. Podstawowym założeniem było przeprowadzenie badania w oparciu o preparaty nieutrwalone, bez naruszenia ciągłości naczyń, geometrii naczyń czy struktur wewnątrznacyniowych. Ponadto Autor postanowił podjąć próbę oceny przydatności zdobytej wiedzy w kontekście klinicznym.

3. Materiał i metody

Rozdział liczy ponad 7 stron i zawiera opis materiału i metod z uwzględnieniem przygotowania preparatów, dokumentacji fotograficznej, badania endoskopowego, pomiarów morfometrycznych, badania histologicznego i analizy statystycznej. Materiał badany składał się z 30 preparatów podstawy mózgowia pochodzących z mózgu 26 mężczyzn i 4 kobiet w wieku od 19 do 77 lat. Na ryc.4 wskazana jest liczba n=33. W każdym z przypadków wykluczono śmierć z powodu chorób naczyniowych OUN, nowotworu oraz urazu głowy. Każdy preparat zawierał tętnice kręgowie, tętnicę podstawną, tętnice łączące tylne, tętnice szyjne wewnętrzne, tętnice przednie mózgu, tętnicę łączącą

przednią oraz tętnice środkowe mózgu. Ostatecznie w badaniu tych 30 preparatów oceniano 154 rozwidlenia tętnic podstawy mózgowia. W doborze grupy badawczej zwraca uwagę duża rozpiętość wiekowa pacjentów między 19 a 77 rokiem życia oraz zdecydowana przewaga mężczyzn $n=26$ nad kobietami $n=4$, co powoduje, że grupa jest nie zrównoważona, czego Autor nie komentuje.

W Metodach Autor szczegółowo opisał sposób umieszczenia kaniuli w tętnicach w celu ich sfotografowania oraz po zbadaniu i udokumentowaniu zewnętrznej budowy układu naczyń tętniczych, opisał badanie endoskopowe. Każdorazowo badanie endoskopowe było rejestrowane z uwzględnieniem na zdjęciach kierunku wprowadzenia endoskopu, wszystkich rozwidleń, struktur wewnątrznacyniowych oraz miejsc odejścia większych tętnic i perforatorów. W przypadku stwierdzenia obecności nietypowych struktur w świetle naczyń, wycinano te odcinki i utrwalano w buforowanej formalinie do dalszych badań histologicznych. Autor dokonał także pomiarów średnicy naczyń ze ścisłym określeniem miejsca pomiaru, a dane te umieścił w tabeli nr 2. Dokonano także pomiarów kątów rozwidleń. Za kąt rozwidlenia przyjmowano kąt zawarty pomiędzy przecinającymi się przedłużeniami osi długich odcinków naczyń znajdujących się bezpośrednio za rozwidleniem jak np. w przypadku bifurkacji tętnicy podstawnej lub przed np. połączeniem tętnic kręgowych. Łącznie mierzono 6 kątów, które przedstawiono z dokładnością do $0,1^\circ$.

Badając struktury wewnątrznacyniowe użyto metod histologicznych: przeglądowej, barwienia hematoksyliną i eozyną oraz barwienia na tkankę łączną, metody Mallory'ego. Autor w opisie metody napisał, że metoda Mallory'ego pozwala zróżnicować włókna nerwowe, tkankę łączną oraz mięśnie. Metoda Mallory'ego wg. podręcznika „Technika histologiczna, histologia oraz podstawy histopatologii”, autora Stanisława Zawistowskiego służy do barwienia zrębu łącznotkankowego- kolor niebieski, a w wyniku barwienia możemy odróżnić także, włókna retikulinowe- kolor czerwony, mięśnie pomarańczowe, jądra komórkowe także czerwone. Metoda Mallory'ego nie różnicuje włókien nerwowych. Ponadto Autor nie umieścił w dokumentacji ani jednego zdjęcia w barwieniu przeglądowym, metodą hematoksyliną-eozyną, która to metoda dobrze ilustruje przebudowę ścian naczyń oraz blaszki miażdżycowe.

W analizie statystycznej zastosowano metody statystyki opisowej. Użyto programu Microsoft Excel (Microsoft, USA) średnia arytmetyczną, odchylenie standardowe, wartość minimalną i maksymalną, medianę oraz kwartyle pierwszy i trzeci.

4. WYNIKI

Opis wyników Autor zaczyna od przedstawienia statystyk opisowych. Opis wyników średnic tętnic podstawy mózgowia i kątów rozwidleń, jest więcej niż lakoniczny, a w opisach pod tabelami nie zamieszczono wytłumaczenia użytych skrótów, których w większości także brakuje w „Spisie użytych skrótów”. Brak także odniesienia do płci i wieku pacjentów, ta uwaga dotyczy wszystkich wyników. Najbardziej niemiaraodajna wydaje się ocena zmian miażdżycowych, których nie spodziewamy się u pacjentów młodych.

Opisy badania endoskopowego są bardziej „obfite” i pozwalają czytającemu poznać cechy wewnętrzne ścian naczyń a przede wszystkim są ilustrowane pięknymi rycinami, które w sposób wyczerpujący ilustrują morfologię głównych pni tętniczych oraz obraz rozwidleń naczyń podstawy mózgowia. Nie wszystkie ryciny (tak makroskopowe jak i endoskopowe) zawierają oznakowania przedstawionych na nich tętnic oraz zmian morfologicznych występujących wewnątrznacyniowo. Dowodzi to biegłości Autora w ocenie obrazów endoskopowych, niestety nie ułatwia mniej biegłym czytelnikom (w tym recenzentowi) w ocenie tych zmian. Wyczerpująco opisane i oznakowane są natomiast napotkane w badaniu endoskopowym struktury wewnątrznacyniowe takie jak: struny, przegrody i mostki.

W wybranych przypadkach dokonano także oceny histologicznej wybranych struktur w nadziei znalezienia przyczyn wystąpienia strun i przegród w tętnicy podstawnej. W wizualizacji zmian morfologicznych wykorzystano jedynie barwienie metodą Mallory'ego, nie podpisując tego pod rycinami, prawdopodobnie z przekonania, że czytający odróżnia metody histologiczne: H&E i Mallory'ego.

Ocena histologiczna ścian naczyń i występujących w nich struktur w sposób wyczerpujący została opisana pod rycinami, tłumacząc tym brak charakterystyki w tekście doktoratu.

5. DYSKUSJA wyników toczy się na prawie 19 stronach i dotyczy nie tylko kwestii, będących bezpośrednim elementem analizy, ale poszerza zakres o szczegółowe porównanie pomiarów średnicy tętnic podstawy mózgowia, kątów rozwidleń tych tętnic z wynikami uzyskanymi przez innych, współcześnie badających te wymiary tętnic autorów. W występowaniu różnic Autor, w przypadku zestawienia częstości występowania naczyń dominujących np. tętnicy tylnej mózgu, dopatruje się w wielkości próby, która była zbyt mała. Natomiast różnice pomiędzy badaczami w obrębie rozwidleń tętnicy podstawnej i tętnicy środkowej mózgu mogą wynikać z tego, że badacze użyli materiału radiologicznego, a autor rozprawy dokonał pomiarów na preparatach biologicznych.

Pionierskie endoskopowe badania anatomii wewnątrznacyniowej zasługują na uwagę, mimo że np. podłużne fałdy w ścianie tętnic były spowodowane najprawdopodobniej obkurczeniem pośmiertnym śródbłonnków. Trudno także było Autorowi ocenić, ze względu na odbicie światła endoskopu od ściany naczynia, czy w badaniu endoskopowym zwiększona przezierność ściany naczynia zależy od kąta rozwidlenia. Endoskopowa ocena naczyń podstawy mózgowia pozwalała natomiast na zobrazowanie blaszek miażdżycowych niewidocznych z zewnątrz. W pracy doktorskiej opisany został także jednostkowy przypadek znacznego poszerzenia tętnicy podstawnej na całej jej długości (średnica 8 mm), który dzięki badaniom histologicznym wskazującym na brak ciągłości błony sprężystej oraz miejscowemu ścięciu błony środkowej tętnicy, pozwolił zakwalifikować do zmian mikroskopowych obserwowanych w dolichoestazji kręgowo-podstawnej. W podrozdziale Struktury wewnątrznacyniowe, Autor zaproponował wspólne pochodzenie embriologiczne tych zmian, twierdząc (w oparciu o opracowania Padgeta, Fujimoto i Lasjauniasa i wsp.), że są one pozostałością bardzo wczesnego etapu organizacji układu tętniczego. Porównując opisy i klasyfikację struktur wewnątrznacyniowych z uwzględnieniem całego spektrum zmian morfologicznych przeprowadzanych na materiale utrwalonym, angiografii komputerowej (CTA) i badaniach rentgenowskich, Autor, endoskopową ocenę anatomii wewnątrznacyniowej na preparatach nieutrwalonych uważa za najlepszą. Wymienia następujące powody, takie jak: nieinwazyjność, czułość, możliwość oceny dynamicznej, możliwość badania bez zaburzenia wzajemnych relacji przestrzennych, jako cechy które czynią badanie endoskopowe za najlepsze. Przyznaje jednak, że pewnym ograniczeniem jest 72 godz. czas do pobrania materiału.

Dyskusję kończy rozważanie jakie znaczenie kliniczne mają opisywane struktury w kontekście czynnościowym i klinicznym. Obecność struktur wewnątrznacyniowych ma znaczenie ze względu na możliwość wywołania zaburzeń przepływu krwi, struktury po oderwaniu mogą stanowić materiał zatorowy, a osłabione naczynia zwiększają ryzyko powstania tętniaka. Tak więc wiedza o możliwości występowania struktur w świetle naczyń OUN, może mieć znaczenia dla osób przeprowadzających zabiegi wewnątrznacyniowe w obrębie tętnic podstawy mózgowia i przygotować operatora na potencjalne trudności w trakcie zabiegu.

6. WNIOSKI. Autor formułuje 5 wniosków, które są częściowym podsumowaniem badań a dodatkowo także oceną wiarygodności i bezinwazyjności metody endoskopowej oraz próbą wytłumaczenia przyczyny powstawania wewnątrznacyniowych struktur. W tej próbie

tłumaczenia patogenezy zmian morfologicznych, Autor używa języka i nazewnictwa z 1948 roku za Padgetem, co wydaje się nieco archaiczne.

Tym niemniej, odpowiedź na założenia i cele pracy są wyczerpująco opisane w dyskusji, co nie budzi zastrzeżeń co do wypełnienia postawionych przez Autora zadań badawczych.

7. BIBLIOGRAFIA. Zacytowano 118 pozycji w kolejności cytowania, co uważam za dużo mniej wygodną wersję od piśmiennictwa podanego wg. alfabety, które ułatwia wyszukanie danej pozycji literatury. W zbiorze cytowanych prac znajdują się prace klasyczne z początku dwudziestego wieku jak i prace z ostatnich lat.
8. DODATEK. Jako zakończenie rozprawy doktorskiej Autor umieścił rozdział pt. Dodatek, który zawiera pięć tablic stanowiących zestawienie obrazu makroskopowego, endoskopowego oraz mikroskopowego, wybranych przypadków badanych w niniejszej pracy. Tabele przedstawione praktycznie bez opisu nie stanowią niestety wartości dydaktycznej. W jednym przypadku Tablicy II, która składa się z cytowanych wcześniej w pracy rycin: 24 A i C, ryc. 33, 34, 35 i ryc.36, po odszukaniu ich w tekście można zapoznać się ze zgrabnie zestawionym obrazem struny wewnątrz naczyńowej. Zdjęcia są w większości bardzo dobrze technicznie wykonane i byłyby ogromną wartością tej unikatowej pracy, gdyby były bardziej szczegółowo opisane czyli bardziej czytelne. Ostatnią stroną rozprawy doktorskiej jest OŚWIADCZENIE Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym (AKBE138/2023) z dnia 08.05.2023 r., która przyjęła do wiadomości informację na temat badania pt. "Ocena endoskopowa i morfometryczna naczyń podstawy mózgowia i ich rozwidleń". Przedstawione badanie nie stanowi eksperymentu medycznego w rozumieniu art.21 ust. 2 dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (Dz. U. z 2018 r. poz. 617) i nie wymaga uzyskania opinii Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym, o której mowa w art. 29 ust.1 ww. ustawy. Podpis Prof. dr hab. n. med. Magdalena Kuźma-Kozakiewicz.

Reasumując, uważam, że podjęte zagadnienie było ważnym tematem badawczym, a recenzowana rozprawa doktorska lek. Mikołaja Sługockiego stanowi oryginalne rozwiązanie tego zagadnienia naukowego. Drobne uwagi krytyczne, zawarte w recenzji, nie podważają mojej pozytywnej opinii o istotności podjętych badań, uzyskanych wynikach i wiedzy doktoranta obejmującej wiele dziedzin medycznych.

Stwierdzam, że przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska „Ocena endoskopowa i morfometryczna naczyń podstawy mózgowia i ich rozwidleń” *spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz.1668)*, dlatego wnoszę o dopuszczenie Doktoranta, Pana lek. Mikołaja Sługockiego, do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Teresa Wierzbą-Bobrowicz