

Prof. dr hab. inż. Krzysztof Cieślcki
e-mail: k.cieslicki@mchtr.pw.edu.pl
em. prof. Politechniki Warszawskiej



Recenzja

rozprawy doktorskiej lek. med. Radosława Rzeplińskiego pt. *“Zależności anatomiczne i hemodynamiczne występujące między umiejscowieniem stentów w wybranych odcinkach koła tętniczego mózgu a odgałęzieniami tętnic wewnątrzczaszkowych”* w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora nauk medycznych.

Niniejsza recenzja jest sporządzona na zlecenie Rady Dyscypliny Nauk Medycznych WUM na podstawie dostarczonej rozprawy doktorskiej lek. med. Radosława Rzeplińskiego, doktoranta Studiów Doktoranckich WUM.

Podstawa prawna wykonania recenzji:

Pismo od Rady Dyscypliny Nauk Medycznych z dnia 28.06.2023 otrzymane w dniu 11.07.2023 łącznie z wydrukowanym egzemplarzem rozprawy.

Praca doktorska lek. med. Radosława Rzeplińskiego została wykonana w Zakładzie Anatomii Prawidłowej i Klinicznej pod kierunkiem promotora prof. dr. hab. n. med. Bogdana Ciszka i stanowiła część projektu OPUS finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki pt. *Modelowanie hemodynamiki przepływu przez tętnice krążenia mózgowego o małej średnicy w warunkach fizjologicznych i po stentowaniu.*

Praca napisana jest w języku polskim, liczy 106 stron podzielonych na 5 rozdziałów i krótkie podsumowanie. Dodatkowo praca zawiera 36 rycin, 7 tabel i 194 pozycje literatury, zacytowane w rozprawie zgodnie z kolejnością ich występowania w tekście.

Dorobek naukowy Autora składa się z 5 współautorskich prac opublikowanych w impaktowanych czasopismach, takich jak: *Stroke, J. Anatomy, J. Biomech, Neurosurg Rev, Folia Morphologica*. W czterech z nich doktorant jest pierwszym współautorem.

Ocena rozprawy

W swojej pracy Doktorant podjął bardzo interesujące, wręcz pionierskie badania nad anatomią i morfologią naczyń przeszywających, odchodzących od tętnicy podstawnej (BA) oraz części klinowej M1 i wyspowej M2 tętnicy środkowej mózgu (MCA).

Jest to temat niezwykle ważny - zarówno z poznawczego - jak i klinicznego punktu widzenia. Poznawczy aspekt pracy wynika z obiektu badania jakim są dość słabo rozpoznane drobne tętniczki przeszywające (perforatory), odchodzące od tętnic podstawy mózgowia poza ich naturalnym

podziałem dychotomicznym. Ich występowanie w unaczynieniu mózgu stanowi osobliwość w skali całego układu krążenia człowieka. Trudność badania tych tętniczek *in vivo* wynika z ich małych wymiarów (średnice poniżej 1 mm) co czyni je słabo rozróżnialnymi, bądź wręcz niewidzialnymi w powszechnie stosowanych metodach obrazowania (MRI, CT, transkranialna ultrasonografia Dopplera) ze względu na zbyt małą rozdzielczość tych metod. Także prowadzone w ostatnich latach próby odwzorowania geometrii perforatorów przy pomocy technik o wyższej rozdzielczości, jak 7T MRI czy też angiografia subtrakcyjna okazały się niesatysfakcjonujące.

Kliniczny aspekt pracy uwidacznia się, gdy rozważamy poważne skutki uszkodzenia perforatorów. Wynikają one z faktu, że tętnice przeszywające są naczyniami anatomicznie i fizjologicznie końcowymi, zatem zatkanie ich pnia materiałem zatorowym lub fragmentem implantowanego stentu (podczas różnych zabiegów inwazyjnych), skutkuje zanikiem przepływu we wszystkich gałęziach zeń wychodzących. Wprawdzie pojedyncze niedokrwienia z obszaru tętnic przeszywających mogą niekiedy (ze względu na ich kaliber lub obszar mózgu, które zaopatrują) nie wywoływać żadnych deficytów neurologicznych (być nieme klinicznie), to jednak wzrost ich liczby prowadzi do rozwoju różnych, niekiedy bardzo poważnych, naczyniopochodnych chorób OUN. Z kolei pęknięcia perforatorów, na co są szczególnie narażone ze względu na połączenia z wysokociśnieniowymi odcinkami tętnic mózgowych, mogą być źródłem groźnych dla życia udarów krwotocznych, w tym śródmózgowych.

Dysertacja ma prawidłowy układ. W obszernym - bo obejmującym jedną trzecią tekstu wstępie - autor dokonał wyczerpującego przeglądu literatury dotyczącej anatomii tętnic podstawy mózgowia i ich najważniejszych gałęzi. Szczególną uwagę poświęcił głównym grupom naczyń przeszywających, zasilających pień mózgu i struktury głębokie. Przedstawił ich znaczenie kliniczne, budowę histologiczną oraz udział w procesach homeostazy wewnątrzczaszkowej (mechanizmach autoregulacji mózgowego przepływu krwi). Omówił odpowiedzi ściany naczyń na zmiany (wzrost, malenie) przepływu i związane z nimi zjawiska remodelingu: eutroficzny i hipertroficzny wzrost naczyń. Naszkicował ważną rolę hemodynamiki w patofizjologii powstawania tętniaków, czy odkładaniu się blaszki miażdżycowej, która skłoniła go do zajęcia się w dalszej części pracy również numeryczną symulacją przepływu w przedmiotowym odcinku układu tętniczego mózgu. Zebrana w tej części bibliografia jest wyczerpująca (82% wszystkich pozycji literatury), a jej analiza świadczy o dobrym rozeznaniu Autora w prezentowanej tematyce.

Wnioski płynące z przedstawionego przeglądu literatury umożliwiły sprecyzowanie głównych celów recenzowanej pracy doktorskiej, jakimi były:

opracowanie technologii uzyskiwania przestrzennych modeli drzew perforatorów odchodzących od tętnicy podstawnej i tętnicy środkowej mózgu,

szczegółowe zbadanie i opisanie morfologii i geometrii drzew perforatorów ze szczególnym uwzględnieniem okolic odejścia tętnic przeszywających od naczyń macierzystych oraz proksymalnego ich przebiegu,

wstępna ocena możliwości wykonania numerycznych obliczeń uśrednionych w czasie pól prędkości i naprężeń w tętnicy podstawnej wraz z odchodzącymi perforatorami,

oszacowanie wpływu obecności przeseł tętniczego stentu na redukcję powierzchni wlotu perforatorów.

Wobec opisanych wyżej trudności odtworzenia geometrii przedmiotowych naczyń w badaniach *in vivo* pozostała jedynie analiza *post mortem*. I tę właśnie analizę zastosował Doktorant z tym, że zamiast klasycznego badania wypreparowanych i utrwalonych preparatów anatomicznych z użyciem mikroskopów optycznych – zastosował metodę nastrzykiwania naczyń w odpowiednio przygotowanych preparatach podstawy mózgowia (wraz z pniem mózgu i mózdzkiem) radiologicznym środkiem kontrastowym i następnie skanował je przy pomocy mikrotomografii komputerowej. Zastosowana technika umożliwiła odwzorowanie rzeczywistej, przestrzennej struktury badanych drzewek tętnic perforujących, zanurzonych w otaczającej tkance mózgowej bez jej zniszczenia.

Ogółem lek. R. Rzepliński przebadiał 10 preparatów tętnicy podstawnej i 23 preparaty tętnicy środkowej. W badaniach wykorzystał stanowisko złożone z mikroskopu operacyjnego, endoskopu, zestawu narzędzi mikrochirurgicznych i układu do wypełniania naczyń kontrastem (roztworem siarczanu baru z żelatyną). W trakcie tych niezwykle pracochłonnych i czasochłonnych eksperymentów Doktorant pokonał wiele trudności. I tak, dla równomiernego wypełnienia naczyń kontrastem musiał bardzo dokładnie wypłukać naczynia, dobrać odpowiednią temperaturę mieszaniny i zamknąć wszystkie dystalne fragmenty badanych fragmentów drzewa naczyniowego. Aby nie uszkodzić lub trwale odkształcić wypełnianych tętnic musiał też dobrać odpowiednie wartości ciśnienia (nie przekraczające wartości fizjologicznych), prędkości i czasu nastrzykiwania. Wreszcie, po kilkunastodniowym utrwaleniu preparatów w roztworze formaliny – ocenić prawidłowość wypełnienia naczyń przy użyciu mikroskopu operacyjnego.

Tak przygotowane preparaty przekazywał do Instytutu Inżynierii Materiałowej WAT, gdzie skanowano je przy pomocy mikrotomografu komputerowego uzyskując obrazy kolejnych przekrojów preparatów zapisanych w standardzie DICOM. Przejście do modeli 3D odbywało się drogą segmentacji naczyń czemu służyły specjalistyczne programy, które identyfikowały przebieg tętnic w kolejnych przekrojach poprzecznych preparatów, a także umożliwiały wygładzenie nieciągłości i eliminację artefaktów, czy też nieanalizowanych fragmentów naczyń. Dla porównania wyników, część preparatów przeskanowano także przy pomocy standardowego tomografu komputerowego stosowanego w szpitalach, a więc o znacznie gorszej rozdzielczości.

Następnym zadaniem Doktoranta było wykonanie bardzo dokładnych pomiarów badanych preparatów, na które składały się: odcinek oraz kwadrant tętnicy podstawnej lub środkowej od których odchodzi perforator, ich łączna liczba i typ. Kolejno przeanalizował miejsca odejścia perforatorów (pole powierzchni i kształt wlotu) oraz ich dalszy przebieg względem płaszczyzn zawierających oś naczynia macierzystego, jak i doń prostopadłej. Należy tu zaznaczyć, że zgodnie ze sformułowanym w 1926 r. prawem Murraya drobne gałęzie, których średnica d jest znacznie mniejsza od średnicy pnia D (czyli gdy $d/D \rightarrow 0$), powinny odchodzić pod kątem prostym. Potwierdziły to wykonane pomiary, z tym, że po bardzo krótkim odcinku perforatory zakrzywiały się kierując się w różne strony względem przebiegu naczynia macierzystego. Na przedstawionych na Ryc.23 pięknych modelach tętnicy podstawnej i środkowej mózgu można zauważyć wyraźne różnice kształtu odchodzących od nich perforatorów. W tętnicy podstawnej mają one kształt długich naczyń, od których odchodzą b. drobne gałązki, natomiast w tętnicy środkowej mają postać dzielących się dychotomicznie drzew.

Ciekawym spostrzeżeniem wynikającym z powyższych pomiarów był zbliżony do elipsy kształt powierzchni wlotów perforatorów i sprzeczny z intuicją kierunek dłuższej osi elipsy, który był prostopadły (a nie wzdłużny) do kierunku przebiegu naczynia macierzystego. Średnia wartość stosunku krótszej do dłuższej osi elipsy była zbliżona do 0.8 i nieznacznie malała wraz z wiekiem w perforatorach tętnicy środkowej mózgu, zwłaszcza tych o równoległym doń przebiegu. Ponieważ rosnące odstępstwo od kołowości przekroju prowadzi do wzrostu oporu przepływu Doktorant zasugerował więc hipotezę, że może ono być przyczyną rosnących wraz z wiekiem zaburzeń krążenia w obszarach mózgu zaopatrywanych przez te tętnice.

W kolejnym punkcie rozprawy Doktorant omówił wstępne wyniki numerycznych symulacji przepływu krwi przez tętnicę podstawną. Stały się one oczywiście możliwe tylko dzięki uzyskanym, dokładnym trójwymiarowym modelom drzew perforatorów. Takich możliwości nie zapewnił kliniczny tomograf, który błędnie łączył obrazy perforatorów biegnących w bliskiej odległości, nie pozwalając odtworzyć ich granic i liczby. Obliczenia wykonano przy użyciu oprogramowania ANSYS Fluent, które wykorzystuje metodę objętości skończonych do rozwiązywania nieliniowych różniczkowych równań Naviera-Stokesa. Pominę tu opis szczegółów dotyczących dyskretyzacji obszaru przepływowego i zastosowanych kryteriach poprawności (zbieżności) obliczeń, bo wykonane one były przez zespół naukowców z WAT, z którymi Doktorant współpracował. Skupię się natomiast na innym zagadnieniu, który rzutował na uzyskane wyniki.

Głównym problemem tego typu symulacji jest oprócz posiadania wystarczająco dokładnych opisów geometrii obszaru przepływowego (co zapewnił Doktorant) – dobór właściwych warunków na pole prędkości lub ciśnienia na wszystkich jego wlotach i wylotach (prędkość krwi na sztywnych ścianach

naczyń jest zerowa), przyjęcie modelu reologicznego krwi oraz odpowiednich układów równań rządzących przepływem. I mam do tego punktu dwie uwagi.

Pierwsza uwaga dotyczy przyjęcia na wszystkich wyjściach naczyń zerowego ciśnienia, czyli tak, jakby wypływ krwi odbywał się do atmosfery, a nie do dalszych części drzewa naczyniowego. Już na str. 40 zauważa Autor, że taka sytuacja *"nie ma nic wspólnego z warunkami panującymi w układzie krwionośnym"*. Zatem dziwi, że w przeprowadzonych symulacjach opisanych na str.57 i dotyczących tętnicy podstawnej właśnie taki warunek zastosowano. Miało to znaczny wpływ na uzyskane wyniki. Dla ich oszacowania obliczyłem wartość ciśnienia p na wlocie tętnicy podstawnej o przykładowej długości $l=30\text{mm}$ i średnicy $d=3.5\text{mm}$, w której płynie krew ze średnią (podaną przez Autora) prędkością U równą 50 cm/s . Przyjmując lepkość krwi $\mu=3.5\text{ mPas}$ i wykorzystując wzór Hagena Poiseuille'a $\Delta p = p - 0 = 32\mu l U / \pi d^2$ otrzymałem wartość 137 Pa czyli 1.03 mmHg . Zatem na wlotach kolejnych perforatorów tętnicy podstawnej pojawia się ciśnienie zmieniające się wzdłuż jej przebiegu od 1 do 0 mmHg . Fizjologiczna wartość ciśnienia na poziomie koła tętniczego mózgu (przy ciśnieniu perfuzyjnym około 95 mmHg) wynosi około 80 mmHg , jest zatem kilkadziesiąt razy większa. Tak mała wartość ciśnienia napędowego w perforatorach musiała skutkować zaniżeniem wartości zarówno prędkości jak i naprężeń w nich występujących, co przyznaje sam Autor pisząc że *"średnie prędkości przepływu przez tętnice mostowe były bardzo niskie i w ponad połowie przypadków wynosiły do 1 cm/s "*. Również i tę wartość można było oszacować drogą prostych rachunków przyjmując, że średnice perforatorów są o rząd wielkości mniejsze do średnicy BA, (0.35 mm), a długości równe np. długości BA. Uzyskana tym sposobem prędkość wyniosła 0.5 cm/s , a więc zgodnie, co do rzędu wielkości, z symulacjami.

Zastosowany niewłaściwy warunek zerowego ciśnienia wyjściowego nie przekreślił oczywiście możliwości numerycznego obliczenia pola prędkości i naprężeń w wzdłuż tętnicy podstawnej bliższego fizjologii, ponieważ profil prędkości na jej wejściu był zadany. Wyniki pokazały silną heterogenność przysciennych naprężeń ścinających wywołaną obecnością ujść naczyń przeszywających. Potwierdzają one, opisaną w literaturze, jakościowo podobną asymetrię naprężeń występujących w aorcie w pobliżu tętnic odchodzących od niej pod kątem prostym (np. tętnice nerkowe czy międzyżebrowe). Naprężenia były niższe od strony napływu krwi i wyższe po dystalnej stronie odejścia (Caro et al. 1978, Frangos et al. w 1999).

Dla poprawy opisanego powyżej mankamentu symulacji należałoby na wyjściu tętnic macierzystych zadać wyższe niż na wyjściach perforatorów ciśnienie, np. takie jakie występuje na poziomie naczyń podstawy mózgowia (wspomina o tym Autor na str. 90) lub, co wydaje się bliższe rzeczywistości, obciążyć ich wyjścia rezystorami o wartościach symulujących dalszą część układu krwionośnego.

Moja druga uwaga dotyczy przyjęcia turbulentnego a nie laminarnego charakteru przepływu krwi w badanych tętnicach. Abstrahując już od faktu, że średnie wartości liczb Re w tętnicy podstawnej

i środkowej wynoszą odpowiednio około 500 – 600, a więc znacznie poniżej granicy utraty stateczności przepływu, to dodatkowo układ krwionośny swoim ukształtowaniem (zbieżność tętniczych segmentów wzdłuż przepływu, elastyczność i krętość osi naczyń, nieniutonowskie właściwości krwi) przepływ laminaryzuje.

W kolejnym punkcie rozprawy Doktorant przeprowadza proste, geometryczne obliczenia potencjalnego wpływu wprowadzonego do naczynia stentu, którego szerokość rozpórki jest zbliżona do średnicy wlotu perforatora, zatem może go przysłonić lub nawet całkowicie zatkać.

Pracę kończą wnioski, odpowiadające postawionym w pracy zadaniom.

Podsumowując, mogę stwierdzić, że wszystkie cele postawione przez lek. Rzeplińskiego zostały zrealizowane i na pewno warte były realizacji, ponieważ przedstawiony kierunek badań jest przyszłościowy i może stanowić wstęp do dalszych studiów nad przepływem krwi w tętnicach z perforatorami.

Chociaż w literaturze opublikowano setki modeli analitycznych i numerycznych przepływu w kole Willis'a o różnym stopniu złożoności, to jednak nie uwzględniały one istnienia naczyń przeszywających, prawdopodobnie ze względu na brak dostępnych trójwymiarowych modeli tych naczyń o wystarczającej dokładności. W konsekwencji, przepływ krwi na wlocie i wylocie segmentu naczyniowego jest taki sam. Obecność perforatorów przeczy temu warunkowi, ponieważ część krwi (na razie nie wiadomo jeszcze jaka, bo zależy to od liczby i oporności drzew naczyń przeszywających) ucieka, stanowiąc jakby "upływność" segmentu naczyniowego.

Pomimo zgromadzonego ogromnego materiału eksperymentalnego dysertacja ma zgrabną objętość jest napisana ładnym językiem i czyta się ją z zainteresowaniem. Należy także podkreślić pracowitość i badawczą determinację Doktoranta. Uzyskanie przedstawionych wyników było okupione wieloma latami żmudnego gromadzenia materiału badawczego i ogromną ilością pracy nad jego uporządkowaniem i analizą.

W trakcie czytania rozprawy nasunęło mi się kilka uwag krytycznych różnej wagi, które teraz wymienię:

Na str. 34 Autor pisze, że spadek przepływu krwi powoduje spadek tarcia i w konsekwencji *"sam przepływ przestaje być laminarny, zaczynają występować obszary recyrkulacji i względnego zastoju"*. O ile pierwsza część zdania jest poprawna, bo tarcie jest proporcjonalne do prędkości przepływu, o tyle jego druga część już nie. I tak, spadek prędkości, a zatem i liczby *Re* coraz bardziej "laminaryzuje" przepływ. Pojawienie się lokalnych rejonów zawirowań i oderwań jest w takim przepływie bardzo częste, zwłaszcza w obszarach zmian przekroju naczyń czy też ich podziałów.

Na str. 40 Autor niepoprawnie utożsamia linie prądu przepływu (ang. *streamlines*) z *"liniami identycznych prędkości"*. Linie prądu są liniami stycznymi w każdym punkcie do kierunku prędkości

cząstek płynu. W przepływie stacjonarnym linie prądu pokrywają się z trajektoriami cząstek płynu, ale prędkość wzdłuż pojedynczej linii prądu może się zmieniać.

Jak wynika z Ryc.33 tętnice przeszywające odchodzące od tętnicy środkowej mózgu dzielą się dychotomicznie tworząc drzewa. Ze względu na anatomicznie końcowy typ tych naczyń przydałaby się informacja o liczbie ich podziałów oraz o relacji średnic naczyń kolejnych generacji, przynajmniej tych o średnicach do 0.1 mm.

Autor nie podał jakie profile prędkości były zadawane na wlocie tętnic BA i MCA (czy paraboloidalne?). Przedstawione na Ryc.21 wykresy nie są profilami prędkości tylko czasowymi przebiegami średnich prędkości w pojedynczym okresie tętna.

Na wielu rycinach (np. 10, 11, 23, 30, 31, 33) brak skali liniowej.

W tekście pracy brak cytowań pozycji od 9 do 12 i od 19 do 22.

W podsumowaniu chciałbym jednak stwierdzić, że zalety przedstawionej do oceny rozprawy zdecydowanie przeważają nad wadami, tym bardziej, że dotyczą one głównie tej części pracy, która była wykonywana w ramach grantu we współpracy z naukowcami z WATu, a Autor ubiega się o stopień doktora nauk medycznych, nie technicznych.

Dysertacja stanowi doskonały przykład efektów zastosowania nowoczesnych technik badania i analizy systemów biologicznych. Pozwoliły one Autorowi na uwidocznienie i opisanie szeregu szczegółów mających diagnostyczne znaczenie a niedostępnych klinicznymi metodami badawczymi. Stwierdzam zatem, że recenzowana praca lek. med. Radosława Rzeplińskiego pt. *„Zależności anatomiczne i hemodynamiczne występujące między umiejscowieniem stentów w wybranych odcinkach koła tętniczego mózgu a odgałęzieniami tętnic wewnątrzczaszkowych”* spełnia wymagania stawiane przez „art.187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018poz.1668 oraz Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 19 stycznia 2018 roku w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora” na stopień doktora i wnoszę o **dopuszczenie pracy do publicznej obrony.**

Ze względu na fakt, że przedstawione dokładne opisy morfologii i geometrii drzew naczyń perforujących mają, jak wspomniałem na wstępie, pionierski charakter i nie były dotychczas opisywane w literaturze w tak szczegółowy sposób, a także ze względu na ich znaczenie kliniczne oraz znaczny dotychczasowy dorobek naukowy Doktoranta **wniosuję o wyróżnienie pracy.**