

Recenzja pracy doktorskiej

Tytuł rozprawy: „*Numeryczna i eksperymentalna optymalizacja planowania leczenia litych nowotworów techniką ablacyjną HIFU kontrolowaną obrazowaniem USG w badaniach przedklinicznych*”

Autor rozprawy: mgr inż. Łukasz Fura

Promotor rozprawy: dr hab. inż. Tamara Kujawska, prof. IPPT

Promotor pomocniczy: dr Norbert Żolek

Dziedzina: nauki inżyniersko-techniczne

Dyscyplina: inżynieria biomedyczna

Przedmiotem recenzji, która została opracowana na zlecenie wyrażone w piśmie Sekretarza Rady Naukowej Instytutu Podstawowych Problemów Techniki Polskiej Akademii Nauk, prof. dr. hab. inż. Zbigniewa Ranachowskiego z dnia 29. kwietnia 2022r. jest rozprawa doktorska mgr. inż. Łukasza Fura.

1. Ogólna charakterystyka pracy

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska podejmuje temat badań numerycznej i eksperymentalnej optymalizacji planowania leczenia zmian nowotworowych tkanki miękkiej metodą termoablacji ultradźwiękowej pod kontrolą obrazowania ultrasonograficznego. Systemy do zabiegów z użyciem skupionych ultradźwięków (tzw. FUS/HIFU) są już od wielu lat obecne i z powodzeniem wykorzystywane do leczenia narządów wewnętrznych ciała ludzkiego *in vivo* dostępnych do zobrazowania akustycznego stosowanego zwykle w celu kontroli zabiegu za pomocą aparatów USG (prostata, wątroba, trzustka, tarczycza, piersi, żyły, kobiece narządy płciowe). W zabiegach HIFU stosuje się też urządzenia, w których rolę nawigacji i kontroli sprawują systemy obrazowania tomografii rezonansu magnetycznego (TRM). Zogniskowane pola ultradźwiękowe wykorzystuje się do walki z nowotworami, ale również do leczenia mięśniaków czy żylaków. Wśród systemów HIFU funkcjonuje też obecnie jedyny klinicznie dopuszczony do bezinwazyjnej przezczaszkowej neurochirurgii w obrębie głowy system ExablateNeuro firmy Insightec. Zasadą działania urządzeń wykorzystujących skupione ultradźwięki jest wytworzenie i kontrolowanie efektu termicznego w ściśle określonym miejscu, tzw. termoablacji, czyli niszczenia patologicznie zmienionych tkanek za pomocą ciepła. Terapia HIFU jest zabiegiem małoinwazyjnym, nie wymagającym rozcinania jamy brzusznej ani żadnych tkanek wokół zmiany patologicznej. Jest nie tylko bezpieczna, ale również bardzo skuteczna w porównaniu z inwazyjnymi operacjami chirurgicznymi. Tematyka rozprawy jest więc bardzo istotna i aktualna zarówno z perspektywy poznawczej, jak i aplikacyjnej.

Rozprawa napisana została w języku polskim i zawiera łącznie 135 stron, na które składa się 5 głównych rozdziałów oraz bibliografia.

Rozdział 1 (Wstęp) obejmuje 9 stron wprowadzenia do tematu rozprawy zawierającego podpartę przeglądem literatury omówienie zasady działania i wykorzystania metody skupionych ultradźwięków HIFU w praktyce klinicznej. W rozdziale tym Doktorant uzasadnił również potrzebę opracowania zweryfikowanego eksperymentalnie narzędzia numerycznego do przewidywania

lokalizacji i rozległości efektów biologicznych na skutek ekspozycji tkanki na wiązkę HIFU o różnych parametrach akustycznych, przeanalizował stan wiedzy w tym zakresie oraz sformułował tezę, przedstawił cel i motywację do podjęcia badań.

W siedmiostronicowym **Rozdziale 2 (Część teoretyczna)** Autor przedstawił podbudowę teoretyczną do przeprowadzonych badań opisując w zwarty i przystępny sposób propagację fal ultradźwiękowych w ośrodkach bezstratnych, zjawiska towarzyszące propagacji fal ultradźwiękowych o skończonej amplitudzie oraz transport ciepła i równanie przewodnictwa cieplnego w tkance.

Rozdział 3 (Badania eksperymentalne) liczący 63 strony rozprawy prezentuje istotny eksperymentalny obszar badań Doktoranta umożliwiając zweryfikowanie celu i udowodnienie tezy rozprawy. W rozdziale tym Doktorant przeprowadził szereg badań termoablacyjnych na tkankach *ex vivo* eksponowanych na wiązki HIFU w celu wyznaczenia progowej mocy akustycznej zdolnej doprowadzić do lokalnego wzrostu temperatury do 56 °C i koagulacji tkanki w ciągu 3 s, czasu termicznej relaksacji tkanki, zależności lokalizacji i rozległości zmiany nekrotycznej powstałej w próbce badanej tkanki od akustycznych parametrów wiązki HIFU, zgodności wielkości powstałych zmian nekrotycznych z zaplanowaną do leczenia objętością tkankową. Do analizy i oceny wyników badań Doktorant wykorzystywał zdjęcia optyczne zmian nekrotycznych tkanki w przekrojach osiowych i promieniowych (poprzecznych), jak również zobrazowanie USG i TMR. Badania przeprowadzone zostały z wykorzystaniem tkanek *ex vivo* dostępnych w sklepie spożywczym, na stanowisku eksperymentalnym zawierającym bimodalne ultradźwiękowe urządzenie ablacyjne HIFU do badań przedklinicznych na małych zwierzętach, opracowane w IPPT PAN.

Rozdział 4 (Modelowanie numeryczne) liczący 44 strony rozprawy stanowi najistotniejszą część pracy, w której Doktorant opracował zweryfikowane eksperymentalnie modele numeryczne dla przewidywania lokalizacji i wielkości zmiany nekrotycznej indukowanej w badanej tkance po jej pojedynczej lub wielokrotnej ekspozycji na wiązkę HIFU o zadanych parametrach akustycznych. Modelowanie to pozwala na zoptymalizowanie planu ablacji w przestrzeni (związanej z wyborem ilości, położenia i kolejności sonifikacji w celu objęcia nekrozą całej leczonej objętości tkanki) oraz w czasie (związanej ze skróceniem czasu procedury ablacyjnej). W efekcie Doktorant opracował algorytm optymalizacji czasu trwania procedury termoablacji HIFU poprzez dobór współczynnika wypełnienia impulsu i odstępu czasowego między ekspozycjami oraz prognozowania wielkości i lokalizacji zmiany nekrotycznej, co było głównym celem pracy i przedmiotem tezy, która została udowodniona. Wyniki numerycznej realizacji planów ablacji Doktorant przedstawił szczegółowo również w postaci filmów dostępnych online, uwidaczniających zmiany w czasie rozkładów temperatury i rozmiarów objętości nekrotycznych w przekroju osiowym i promieniowym (poprzecznym) symulowanych próbek tkankowych.

Rozdział 5 (Podsumowanie) zawiera zwarte 4-stronicowe podsumowanie przeprowadzonych badań, w którym Doktorant przedstawił w syntetyczny sposób wykonane prace i uzyskane rezultaty.

Rozprawę uzupełnia 8-stronicowa **Bibliografia**, która liczy 84 pozycje. Literatura przedmiotu cytowana przez Doktoranta jest prawidłowo dobrana, aktualna, w większości angielskojęzyczna.

Układ pracy jest poprawny. Zagadnienia związane z wprowadzeniem do tematu rozprawy, analizą stanu wiedzy oraz opisem zjawisk związanych z propagacją fal akustycznych o skończonej amplitudzie i transportem ciepła w tkankach zostały zawarte w 2 rozdziałach rozprawy (1 i 2) liczących łącznie 16 stron (tj. 11.9 % całej rozprawy). Zagadnienia bezpośrednio związane z badaniami zrealizowanymi w ramach rozprawy przez Doktoranta zawarte zostały w 2 obszernych rozdziałach rozprawy i w Podsumowaniu (3, 4 i 5) liczących łącznie 111 stron (tj. 82.2 % całej

rozprawy). Treści rozprawy zostały logicznie podzielone na rozdziały, a ich zawartość i zakres nie budzą zastrzeżeń.

2. Oryginalne osiągnięcia rozprawy

Zagadnienia poruszone w recenzowanej rozprawie doktorskiej koncentrują się na opracowaniu metody predykcji numerycznej i optymalizacji czasowej planu zautomatyzowanej terapii ablacyjnej HIFU wraz jej weryfikacją eksperymentalną na próbkach tkanek miękkich *ex vivo*. Potwierdzona eksperymentalnie możliwość numerycznego modelowania położenia i wielkości zmiany nekrotycznej indukowanej w badanej tkance po jej pojedynczej lub wielokrotnej ekspozycji na wiązkę HIFU pozwala na optymalizację parametrów stosowanej fali ultradźwiękowej oraz sposobu ogniskowania wiązki HIFU w celu istotnego skrócenia czasu procedury ablacyjnej oraz zaplanowania koniecznych do uzyskania lokalizacji i objętości zmian nekrotycznych pokrywających się w sposób ciągły z odpowiednią objętością zmiany patologicznej przeznaczonej do leczenia terapeutycznego. W ramach rozprawy doktorskiej Autor opracował zweryfikowany eksperymentalnie model numeryczny do predykcji lokalizacji i rozmiarów zmian nekrotycznych indukowanych wiązką HIFU w tkankach *ex vivo* oraz algorytm do optymalizacji czasu trwania procedury termoaablacyjnej. Z przeglądu literaturowego wynika, że dotychczas nie opracowano jeszcze takiego kompleksowego modelu numerycznego.

W szczególności, za cel rozprawy Autor przyjął:

- badania eksperymentalne zautomatyzowanej terapii ablacyjnej HIFU w zależności od różnych parametrów sonifikacji na próbkach tkanki miękkiej *ex vivo*,
- opracowanie metody predykcji numerycznej i optymalizacji planu terapii ablacyjnej HIFU pod kątem istotnego skrócenia czasu terapii.

Na potrzeby realizacji tego celu Doktorant sformułował następującą tezę rozprawy:

*„Możliwe jest znaczne skrócenie czasu trwania procedury ablacyjnej wymagającej wielokrotnej ekspozycji na wiązkę HIFU poprzez numeryczną predykcję lokalizacji i rozległości zmian nekrotycznych w tkankach *ex vivo* oraz czasową optymalizację planu terapii.”*

Doktorant dążył do udowodnienia postawionej tezy realizując następujące zadania:

1. Przeanalizował podstawy teoretyczne generacji i transportu ciepła w tkankach w wyniku propagacji fal ultradźwiękowych o skończonej amplitudzie.
2. Zaplanował i przeprowadził badania eksperymentalne progowej mocy akustycznej skupionej wiązki ultradźwięków zdolnej wywołać lokalny wzrost temperatury do 56 °C i koagulację tkanki miękkiej *ex vivo* w ciągu 3 s oraz badania czasu termicznej relaksacji tkanki, zależności lokalizacji i rozległości zmiany nekrotycznej powstałej w próbce badanej tkanki od akustycznych parametrów wiązki, zgodności wielkości powstałych zmian nekrotycznych z zaplanowaną do leczenia objętością tkankową.
3. Na podstawie przeprowadzonych badań eksperymentalnych opracował założenia i model numeryczny metody predykcji i optymalizacji planu terapii ablacyjnej HIFU z wykorzystaniem specjalizowanego pakietu narzędzi k-Wave przeznaczonego do pracy w środowisku MATLAB.
4. Przeanalizował i porównał uzyskane wyniki badań eksperymentalnych i symulacji numerycznych wykazując ich dobrą zgodność.

W rezultacie Doktorant zrealizował cel rozprawy oraz udowodnił postawioną tezę uzyskując około 7 - 11-krotne skrócenie czasu terapii zadanych cylindrycznych objętości tkankowych.

Dorobek publikacyjny doktoranta potwierdza, że zdobył on szeroką wiedzę w zakresie tematyki swoich badań, a Jego osiągnięcia zostały zaprezentowane i zweryfikowane w środowisku

naukowym, w postaci artykułów opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych oraz referatów wygłoszonych na konferencjach międzynarodowych: 2022 SPIE Medical Imaging in San Diego (USA); The 21st Annual International Symposium on Therapeutic Ultrasound 2022 in Toronto (Canada); XXII Polish Conference on Biocybernetics and Biomedical Engineering 2021 in Warsaw (Poland); 2019 International Congress on Ultrasonics in Bruges (Belgium); The 19th International Symposium for Therapeutic Ultrasound in Barcelona (Spain). Według bazy WoS i Scopus doktorant jest pierwszym współautorem 4 publikacji: 3 artykułów w czasopismach z tzw. listy filadelfijskiej (Archives of Acoustics, Applied Acoustics) oraz jednego referatu konferencyjnego wydrukowanego w materiałach Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE.

Za najważniejsze osiągnięcia Doktoranta uważam:

1. Przeprowadzenie badań eksperymentalnych zautomatyzowanej terapii ablacyjnej HIFU w zależności od różnorodnych parametrów sonifikacji na próbkach tkanki miękkiej *ex vivo* oraz kompleksową analizę ich wyników.
2. Opracowanie na podstawie przeprowadzonych badań eksperymentalnych metody predykcji numerycznej i optymalizacji planu terapii ablacyjnej HIFU pod kątem istotnego skrócenia czasu terapii.

Wymienione osiągnięcia wnoszą istotny wkład Doktoranta w rozwój dyscypliny inżynieria biomedyczna i stanowią podstawę do dalszych badań, które mogą zaowocować opracowaniem automatycznych algorytmów planowania ablacji HIFU z optymalizacją procesu sonifikacji, doboru parametrów generowanej fali ultradźwiękowej i sposobu jej ogniskowania. Opracowany przez doktoranta model numeryczny może również znaleźć zastosowanie w prognozowaniu pól termicznych indukowanych lokalnie w tkankach w celu uwalniania przeciwnowotworowych leków dostarczanych selektywnie do leczonych tkanek w termoczułych liposomach.

3. Uwagi krytyczne i dyskusyjne

Przedstawione tu pytania i uwagi mają bardziej charakter uzupełniający i polemiczny niż krytyczny i nie umniejszają wysokiej w mojej ocenie wartości rozprawy.

1. Analizując obszary pokrycia nekrozą zadanej objętości tkankowej nasuwa się pytanie czy wielokrotna termoablacja tego samego obszaru tkanki jest dopuszczalna *in vivo*? Czy nie wywoła to negatywnych skutków w postaci oddziaływań wtórnych? Czy w przypadku planu wielokrotnej terapii ablacyjnej HIFU zjawisko kawitacji ma niewielki udział?
2. Białka zbudowane z aminokwasów stanowią podstawowy materiał budulcowy tkanek. Zmieniają one swoją strukturę przestrzenną przechodząc z zolu w żel w procesie koagulacji pod wpływem temperatury. Zmiany te są odwracalne dopóki nie nastąpi denaturacja (tzw. ścięcie białka). Podczas procesu denaturacji niszczone są wiązania wodorowe i mostki disulfidowe, które nadają cząsteczce białka charakterystyczny kształt. Po przekroczeniu temperatury przemiany zolu w żel, położenie krzywych temperaturowych dla prędkości i tłumienia ultradźwięków w białku zależy od maksymalnej temperatury podgrzania żelu. Efekt histerezy temperaturowej w żelu oznacza, że gęstość sieci proteinowej utworzonej podczas ogrzania do określonej temperatury zachowuje stabilność w czasie oziębiania i ponownego ogrzewania. Gęstość sieci zależy od maksymalnej temperatury, dlatego krzywe temperaturowe prędkości i tłumienia ultradźwięków w białku zmieniają się dopiero ze wzrostem maksymalnej temperatury podgrzania białka. Oznacza to, że prędkość i tłumienie ultradźwięków w białku zależą od jego historii termicznej. Ponadto białko charakteryzuje się znaczną inercją, tj. przy nagłym wzroście temperatury obserwuje się powolne zmniejszenie prędkości oraz powolny wzrost wartości tłumienia fali

ultradźwiękowej, aż do wartości nasycenia (w białku jaja kurzego osiągniętych po czasie około 90 minut). Inercja ta spowodowana jest procesem powolnego budowania sieci proteinowej. Czy w przypadku szybkiego podgrzewania i relaksacji termicznej tkanki realizowanych pod kątem skrócenia czasu terapii nie należałoby wziąć dodatkowo pod uwagę zjawiska histerezy temperaturowej w strukturach białkowych? Proszę się zastanowić jaki mógłby być jej wpływ?

3. Autor przyjął sposób oceny objętości nekrotycznej w badaniach eksperymentalnych na podstawie zmiany zabarwienia na zdjęciach optycznych przekrojów tkanek (str 44 i 69): „Zakładano, że zmiana nekrotyczna występuje w obszarze charakteryzującym się co najmniej 50 % zmianą jasności względem obszaru nieobjętego sonikacją.”. Uzasadnił to w pracy w sposób przekonujący (str 30): „Ze względu na mniejszą niepewność wyznaczania progowej mocy akustycznej stosując metodę opartą na rejestracji powstałych nekrotycznych zmian ze zdjęć ich przekrojów niż stosując pomiar lokalnego wzrostu temperatury za pomocą termopar, wybrano pierwszą metodę.”. Czy jednak nie byłaby tu uzasadniona choćby wyrywkowa ale bardziej precyzyjna histopatologiczna weryfikacja mikroskopowa granic zmian nekrotycznych na podstawie obserwacji zmian w komórkach?
4. Proszę o przeanalizowanie korelacji pomiędzy zależnością częstości powstawania nekrozy a częstości powstawania obszaru hiperechogenicznego na obrazach USG w funkcji mocy akustycznej aplikowanej wiązki HIFU (por. rys.3.9 i 3.11 oraz 3.21 i 3.22).
5. Na str 28-29 Autor pisze: „Przeprowadzono także serię 19 ekspozycji 3 sekundowych próbki tkankowej na wiązkę HIFU o mocy akustycznej 32 W. Podczas tych eksperymentów zmierzono lokalny przyrost temperatury wewnątrz tkanki za pomocą termopar umieszczonych na osi wiązki na głębokości 5 mm, 10 mm, 15 mm, 20 mm i 25 mm pod powierzchnią tkanki. Przykładowe wykresy lokalnych przyrostów temperatury w czasie pokazano na Rys. 3.12.”. Rozumiem, że każdy z tych pomiarów przeprowadzony został w ognisku wiązki?
6. Proszę o szczegółowe wyjaśnienie w jaki sposób zmierzono moc akustyczną metodą ciśnienia promieniowania za pomocą miernika mocy UPMDT1E Ohmic Instruments (rys.3.17)? W ognisku? Czy oszacowano wartości natężenia i ciśnienia fali ultradźwiękowej? Jaka jest sprawność i charakterystyka częstotliwościowa wykorzystywanej głowicy HIFU?
7. Na str 94 Autor podaje, że maksymalne dodatnie ciśnienie w tkance uzyskane w modelu numerycznym wynosi 11.6 MPa. W jaki sposób znormalizowano wartości ciśnienia akustycznego w części eksperymentalnej (rys.3.18, rys.3.19) i teoretycznej (rys.4.3b, rys.4.4, rys.4.5) pracy, względem jakiej wartości? Czy bezwzględne wartości ciśnienia akustycznego w ognisku uzyskane w modelu numerycznym są zgodne z wynikami eksperymentu? Jakie to wartości?
8. Proszę o wyjaśnienie terminu „początkowe ciśnienie na powierzchni źródła 0.286 MPa” lub inaczej „amplituda ciśnienia początkowego” (tab.4.1, str 91) oraz terminu „początkowe natężenie 2.7 W/cm²” (tab.4.1, str 91).
9. Szkoda, że Doktorant nie zacytował w bibliografii własnych publikacji współautorskich.

4. Uwagi dotyczące redakcyjnej strony rozprawy

Analiza rys.3.21 w porównaniu z rys.3.22 wskazuje na błąd w podpisie rys.3.21: jest „ $f = 3.21$ MHz”, a powinno być „ $f = 1.08$ MHz” (str 46).

Na rys.3.31b pokazano raczej wpływ różnych współczynników wypełnienia impulsu, a nie różnych czasów trwania impulsu jak to jest wyszczególnione w podpisie (str 57).

Poza tym w pracy można znaleźć nieliczne błędy edycyjne ale nie wpływają one na jej merytoryczną wartość i nie powodują trudności w zrozumieniu zagadnień, czy też w interpretacji wyników (interpunkcja, niektóre zmienne pisane bez kursywy, brak przecinków i/lub kropek po niektórych wzorach, literówki, itp.).

5. Wniosek końcowy

Podsumowując stwierdzam, że Doktorant dowiódł postawionej tezy oraz wniósł istotny wkład w rozwój dyscypliny inżynieria biomedyczna. Moja recenzja jest jednoznacznie pozytywna.

Recenzowana praca doktorska spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim, zgodnie z Ustawą o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 r. (Dz.U. z 2017 r. poz. 1789), oraz zgodnie z Ustawą z 3 lipca 2018 r. – Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.) w dziedzinie nauk inżynieryjno-technicznych, w dyscyplinie inżynieria biomedyczna.

Wnoszę o przyjęcie rozprawy i jej dopuszczenie do publicznej obrony.

