



AGH

AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA IM. STANISŁAWA STASZICA W KRAKOWIE

Wydział Fizyki i Informatyki Stosowanej

Praca magisterska

Katarzyna Chmielewska

kierunek studiów: fizyka medyczna

specjalność: techniki obrazowania i biometria

Badanie struktury złogów wapiennych w zastawkach aortlanych w powiązaniu z obrazem klinicznym choroby

Opiekun: dr hab. inż. Jacek Tarasiuk

Kraków, wrzesień 2016 r.

Oświadczam, że świadoma odpowiedzialności karnej za poświadczanie nieprawdy, że niniejszą pracę dyplomową wykonałam osobiście i samodzielnie i nie korzystałam z innych źródeł, niż wymienione w pracy.

.....
(czytelny podpis)

Chciałabym złożyć najszczersze wyrazy podziękowania dla mojego Promotora, **dr hab. inż. Jacka Tarasiuka**, za jego cenne wskazówki i wszelkie konsultacje, jakie odbywały się w trakcie powstawania niniejszej pracy magisterskiej.

Serdecznie dziękuję również zespołowi badawczemu **prof. dr hab. n. med. Anetty Undas** za udostępnienie materiału badawczego w postaci płatków zastawek aortalnych oraz wyników badań klinicznych pacjentów ze Szpitala Jana Pawła II w Krakowie, które analizowałam w ramach mojej pracy dyplomowej.

Chciałabym również z całego serca podziękować mojej **Rodzinie**, bez której nie dałabym rady. Wasze motywujące słowa były dla mnie niezmiernie ważne. Dziękuję Wam za to, że jesteście i wspieracie mnie w każdej chwili mojego życia.

dr hab. inż. Jacek Tarasiuk
Wydział Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH
Katedra Fizyki i Materii Skondensowanej

Merytoryczna ocena pracy przez opiekuna:

Skala ocen: 5.0 - bardzo dobra, 4.5 - plus dobra, 4.0 - dobra, 3.5 - plus dostateczna, 3.0 - dostateczna, 2.0 - niedostateczna

(recenzent)

Merytoryczna ocena pracy przez recenzenta:

Skala ocen: 5.0 - bardzo dobra, 4.5 - plus dobra, 4.0 - dobra, 3.5 - plus dostateczna, 3.0 - dostateczna, 2.0 - niedostateczna

SPIS TREŚCI

1	Wstęp.....	11
2	Cel pracy.....	13
3	Wprowadzenie teoretyczne.....	14
3.1	Serce. Krwioobieg duży i mały.....	14
3.2	Zastawki serca	16
3.3	Zastawki aortalne	17
3.4	Wady zastawkowe serca.....	19
3.4.1	Niedomykalność zastawki aortalnej.....	19
3.4.2	Zwężenie zastawki aortalnej (Stenoza aortalna).....	23
3.5	Kalcyfikacja zastawek aortalnych	29
3.6	Badania mikrotomograficzne zastawek aortlanych.....	31
3.6.1	Aparatura pomiarowa i metodyka przeprowadzanych badań	32
3.6.2	Analiza jakościowa i ilościowa badanych próbek - metodyka i otrzymane wyniki.....	34
4	Analiza jakościowa i ilościowa IV serii zastawek aortalnych	42
4.1	Analiza jakościowa.....	42
4.1.1	Złogi wapienne.....	43
4.1.2	Tkanka miękka	45
4.2	Analiza statystyczna histogramów gęstości dla tkanki miękkiej zastawki i złogów wapiennych	47
4.2.1	Złogi wapienne.....	47
4.2.2	Tkanka miękka	49

4.3	Analiza ilościowa.....	50
4.3.1	Analiza frakcji ciężkiej zawartej w złogach	53
5	Analiza jakościowa złogów wapiennych - nowe podejście.....	56
5.1	Analiza struktury gęstości grudek.....	56
5.1.1	Opis makra Density3D.ijm	56
5.1.2	Wyniki analizy struktury gęstości grudek w 3D dla 4 wybranych zastawek: Z12, Z17, Z18 i Z39.....	57
5.1.3	Podsumowanie analizy jakościowej struktury gęstości grudek w 3D dla 4 zastawek: Z12, Z17, Z18 i Z39	64
5.2	Analiza jakościowa struktury i kształtu złogów wapiennych w zastawkach.....	65
5.2.1	Particle Analyser	66
5.2.2	Erode(3D).....	66
5.2.3	Erode.ijm - makro wykorzystane do jakościowej analizy struktury i kształtu złogów wapiennych.....	67
5.2.4	Analiza jakościowa kształtu i struktury Grudek wapiennych przy wykorzystaniu operacji erozji.....	68
5.2.5	Wyniki przeprowadzonej analizy.....	69
5.2.6	Podsumowanie analizy jakościowej złogów z wykorzystaniem morfologicznej operacji erozji	74
6	Analiza ilościowa złogów wapiennych - nowe podejście.....	75
6.1	Purify.....	75
6.2	Wyniki analizy ilościowej z wykorzystaniem <i>Purify</i>	76
7	Analiza statystyczna	78
7.1	Dane kliniczne.....	78
7.1.1	Dane demograficzne	79
8		

7.1.2	Wyniki badań morfologicznych krwi	82
7.1.3	Wyniki badań immunologicznych	83
7.1.4	Wyniki badań echokardiograficznych.....	86
7.2	Korelacja rang Spearmana	87
7.2.1	Korelacja między danymi demograficznymi a parametrami morfologicznymi złogów	87
7.2.2	Korelacja między wynikami badań morfologicznych a parametrami morfologicznymi złogów	89
7.2.3	Korelacja między wynikami badań immunologicznych a parametrami morfologicznymi złogów	91
7.2.4	Korelacja między wynikami badań echokardiograficznych a parametrami morfologicznymi złogów	92
7.3	Korelacja liniowa Pearsona.....	93
7.4	Podsumowanie analizy statystycznej.....	94
8	Podsumowanie	96
9	Dodatek A - Zestawienie szczegółowych danych liczbowych dotyczących zastawek aortalnych.....	100
10	Dodatek B - Wykresy.....	113
10.1	Mapy cieplne.....	113
10.1.1	Zastawka Z12.....	113
10.1.2	Zastawka Z17.....	116
10.1.3	Zastawka Z18.....	120
10.1.4	Zastawka Z39.....	123
10.2	Wykresy zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji.....	127

10.2.1	Grupa 1.....	127
10.2.2	Grupa 2.....	130
10.2.3	Grupa 3.....	143
11	Dodatek C - autorskie algorytmy służące do analizy jakościowej złogów	146
11.1	Density3D	146
11.2	Erode.....	147
12	Bibliografia.....	148
13	Spis ilustracji	150
14	Spis tabel	151
15	Spis wykresów	155

1 WSTĘP

Wady zastawkowe (obok miażdżycy i nadciśnienia tętniczego) należą do jednych z najczęściej występujących schorzeń układu krwionośnego na świecie. Ich bezpośrednią przyczyną jest odkładanie w tkance miękkiej zastawek (a dokładniej w płatkach) złogów wapiennych. Mimo ciągłego rozwoju medycyny oraz wielu badań prowadzonych w tej dziedzinie, nie udało się do tej pory w pełni poznać etiologii procesu kalcyfikacji prowadzącego do nieprawidłowej pracy zastawek serca (głównie niedomykalności oraz zwężenia ujścia zastawkowego), co skutkuje groźnymi uszkodzeniami mięśnia sercowego, w tym przeważnie niewydolnością lewej komory, która nie jest w stanie sprostać działającemu na nią obciążeniu. Istnieją liczne przesłanki, iż powstawanie zwapnień ma charakter aktywny (wbrew wcześniejszym przekonaniom, że jest to jedynie bierne następstwo postępujących zmian miażdżycowych), ze względu na angażowanie komórek kościotwórczych (osteoblastów) oraz układu immunologicznego, a także towarzyszących mu często stanów zapalnych, powstających w wyniku wieloletniego działania sił ścinających o charakterze dystroficznym.

Dostępne dane literaturowe mówią, iż proces ten jest związany z zaburzeniami gospodarki lipidowej (głównie podwyższonym poziomem cholesterolu oraz trójglicerydów), nieprawidłową pracą nerek (szacowaną na podstawie wyznaczonych wartości mocznika, kreatyniny oraz wskaźnika filtracji kłębuzkowej - GFR), chorobami reumatologicznymi, paleniem papierosów, otyłością oraz wieloma innymi czynnikami. Kolejne badania wyłaniają potencjalne parametry, z którymi można by powiązać proces wapnienia, jednak jego bezpośrednią przyczyną oraz etiologią do tej pory nie zostały poznane. Stanowi to nadal otwarte pole do działania, stąd też w niniejszej pracy magisterskiej postanowiono podjąć się zadania i spróbować odpowiedzieć na pytanie: czy na podstawie wyników badań klinicznych pacjentów z wadami zastawkowymi da się odpowiednio wcześnie zdiagnozować te schorzenia i wprowadzić skuteczne leczenie farmakologiczne, unikając tym samym chirurgicznej wymiany zastawki na sztuczną?

W dwóch pierwszych rozdziałach pracy przedstawiono jej cel oraz charakterystkę najczęściej występujących wad zastawki aortlanej będącej przedmiotem analiz - niedomykalności oraz stenozy. Ze względu na fakt, iż przeprowadzany eksperyment jest kontynuacją badań wykonanych w ramach pracy inżynierskiej, opisano również pokrótkę jej

wyniki oraz główne spostrzeżenia, aby w rozdziale 4 płynnie przejść do przeanalizowania czwartej serii pomiarowej (11 pojedynczych płatków półksiężycowatych), zgodnie z wcześniejszą procedurą postępowania.

Kolejne rozdziały (piąty i szósty) skupiały się na nowym podejściu do analizy jakościowej oraz ilościowej posiadanych obrazów mikrotomograficznych płatków półksiężycowatych zastawek aortalnych z obecnymi złogami wapiennymi. Dzięki zastosowaniu autorskich algorytmów uzyskano szersze spojrzenie na zwapnienia, otrzymując informacje o strukturze, kształcie oraz rozkładzie gęstości w obrębie pojedynczych grudek.

Rozdział 7 poświęcono w całości analizie statystycznej danych klinicznych oraz parametrów uzyskanych na podstawie analizy przekrojów zastawek. Jako, że był to główny cel niniejszej pracy, zawarto w nim najistotniejsze wyniki przeprowadzanych badań obejmujące m.in. wartości współczynników korelacji między zmiennymi, mówiących o istniejących między nimi powiązaniach. Dzięki temu możliwe było wysnucie hipotez, które być może rzucą nowe światło na diagnostykę chorób zastawkowych. Całość rozważań podsumowano w ostatnim, ósmym rozdziale pracy magisterskiej.

2 CEL PRACY

Niniejsza praca dyplomowa jest eksperymentem badawczym mającym na celu powiązanie parametrów złogów obserwowanych w 44 zastawkach aortlanych usuniętych chirurgicznie pacjentom ze Szpitala Jana Pawła II w Krakowie, m.in. zawartości procentowej grudek w pojedynczych płatkach półksiężycowatych, ich objętości, stopnia pofałdowania, udziału frakcji ciężkiej w całości złogów, z obrazem klinicznym schorzenia, jakim jest zwężenie zastawek aortlanych powstałe na skutek ich zwarcenia.

W trakcie realizacji eksperymentu posłużono się analizą statystyczną opartą na wyznaczaniu współczynnika korelacji między poszczególnymi zmiennymi. Z uwagi na fakt, że część danych wyrażana była w skali porządkowej, a wśród pozostałych wartości liczbowych znajdowały się takie, których rozkład znacznie odbiegał od normalnego, korzystano w głównej mierze z nieparametrycznej statystyki, jaką jest współczynnik korelacji rang Spearmana. Tam, gdzie spełnione były odpowiednie warunki (zmienne w skali liczbowej o rozkładzie normalnym), skorzystano z parametrycznego współczynnika korelacji liniowej Pearsona. Otrzymane wyniki porównano ze sobą i wysnuto na ich podstawie wnioski.

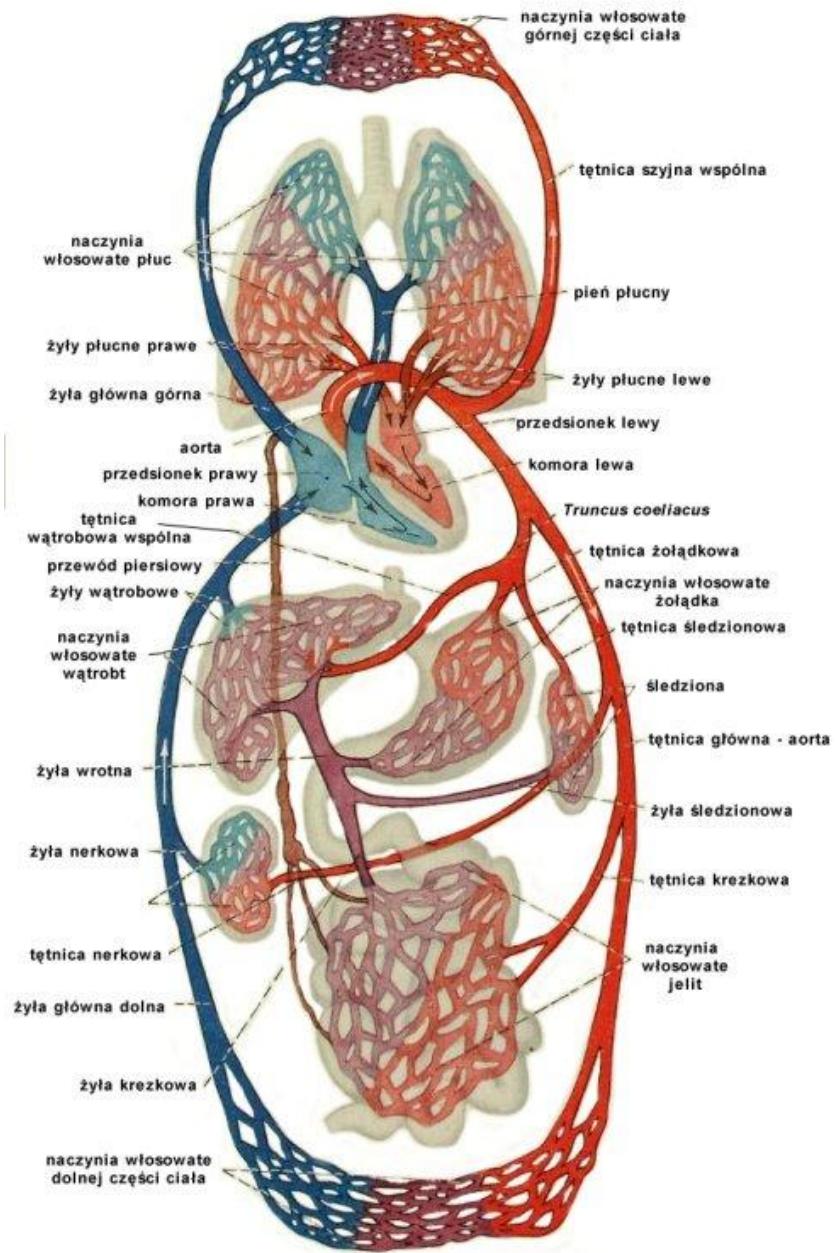
3 WPROWADZENIE TEORETYCZNE

3.1 SERCE. KRWIOOBIEG DUŻY I MAŁY.

Serce to niezwykle ważny organ w naszym organizmie. Ten wydrążony mięsień będący ośrodkową częścią układu naczyniowego oraz śródpiersia środkowego pełni rolę pompy ssąco-tłoczącej, która umożliwia przepływ krwi po całym ciele, dostarczając tlen i składniki odżywcze wszystkim komórkom organizmu [1][2]. Serce można podzielić na dwie części - prawą i lewą, w których z kolei można wyróżnić po 2 jamy wysłane wsierdziem¹ - przedsionek oraz komorę. Ich zadaniem jest odpowiednio odbieranie napływającej krwi oraz wypychanie jej na zewnątrz w trakcie rytmicznej pracy mięśnia.

Obie połowy serca kurczą się jednocześnie i stale, każdorazowo wypompowując tę samą ilość krwi. Serce prawe (przedsionek prawy i prawa komora połączone ujściem przedsionkowo-komorowym prawym) tłoczy krew do krażenia płucnego (zwanego również małym), którego rolą jest zaopatrzenie tej płynnej tkanki w tlen. Następnie powracająca krew trafia żyłami płucnymi do lewego przedsionka, skąd przedostaje się przez ujście przedsionkowo-komorowe lewe do lewej komory. Tam rozpoczyna się tzw. krwioobieg duży, mający na celu dostarczenie tlenu oraz składników odżywczych i regulacyjnych do wszystkich komórek organizmu, a także wydalenie zbędnych produktów przemiany materii (metabolitów). Krew z lewej komory wypychana jest do głównej tętnicy - aorty (dzielącej się na aortę wstępującą, zstępującą i łuk aorty), następnie przez tętnice dostaje się do sieci naczyń włosowatych i przez sieć żylną, pozbawiona tlenu, wraca do prawego przedsionka i prawej komory, rozpoczynając stamtąd obieg płucny [2].

¹ Wsierdzie jest najbardziej wewnętrzną częścią ściany serca zbudowaną z jednowarstwowego nabłonka płaskiego spoczywającego na łącznotkankowym podłożu. Wnikają do niego naczynia włosowate oraz zakończenia nerwowe.

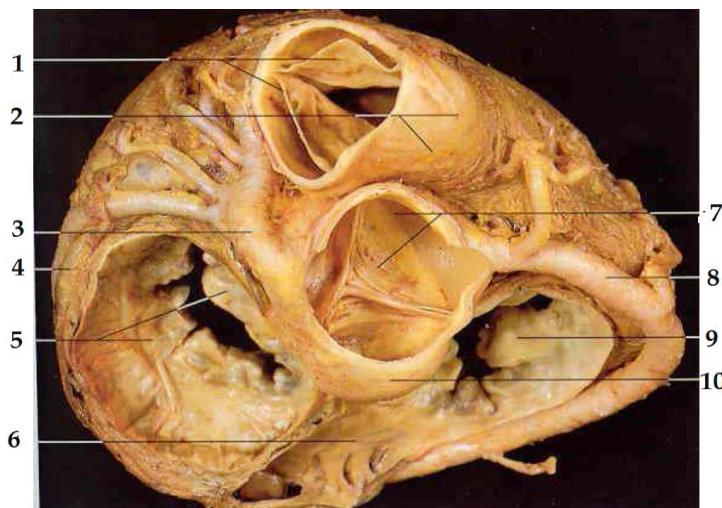


Rysunek 3.1. Dokładny schemat przedstawiający krwioobieg duży i mały [13].

Patrząc na pochodzenie serca, jest ono niczym innym, jak wyspecjalizowanym odcinkiem cewy naczyniowej, która wzmacniła swą mięśniówkę i zwiększyła światło, aby sprostać zróżnicowanym wymaganiom, jakimi jest nieustanny transport 3-30 litrów krwi na minutę, w zależności od aktualnego zapotrzebowania organizmu spowodowanego np. zwiększoną wysiłkiem fizycznym, czy też umysłowym [2].

3.2 ZASTAWKI SERCA

Niezwyczajne istotne jest, aby przepływ krwi był ścisłe określony i uporządkowany. Jest to możliwe m.in. dzięki **zastawkom** - łącznotkankowym tworom znajdującym się w 4 ujściach serca: tętniczych (pnia płucnego i aorty) oraz dwóch przedsionkowo-komorowych: prawym (trójdzielna) i lewym (dwudzielna, mitralna). Zastawki zapobiegają cofaniu się krwi z przedsionków do komór oraz z tętnic do serca, co uniemożliwia mieszanie się krwi odtlenowanej z natlenioną, regulując tym samym prawidłowy obieg krwi w sercu.



Rysunek 3.2. Zastawki serca: 1 - zastawka pnia płucnego, 2 - zatoka pnia płucnego, 3 - tętnica wieńcowa lewa, 4 - żyła wielka serca, 5 - zastawka przedsionkowo-komorowa lewa, 6 - zatoka wieńcowa, 7 - zastawka aorty, 8 - tętnica wieńcowa prawa, 9 - zastawka przedsionkowo-komorowa prawa, 10 - opuszka aorty [3]

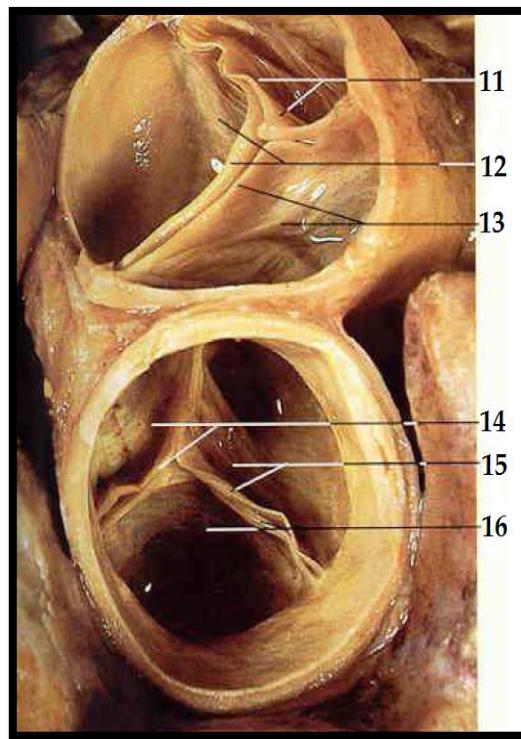
Oba typy zastawek: żylne i tętnicze, mimo z pozoru podobnej roli - regulacji obiegu krwi w sercu, różnią się od siebie znacząco zarówno pod względem budowy jak i funkcji. Zastawki żylne - trójdzielna oraz dwudzielna, przyczepione są do pierścieni włóknistych², które okalają oba ujścia przedsionkowo-komorowe. Są tworami wsierdzia składającymi się z płatków (2 lub 3), a ich zadaniem jest utrzymanie jednokierunkowego

² Łącznotkankowe twory odgraniczające mięśniówkę komór od cieńszej mięśniówki przedsionków; stanowią miejsce przyczepu zastawek przedsionkowo-komorowych oraz włókien mięśniowych [3].

przepływu krwi z przedsionków do komór. Niestety, niekiedy w wyniku pojawiających się zwapnień obserwowanych jako zgrubienia na końcach płatków, może dochodzić do ich niedomykalności, a w rezultacie - do częściowego cofania się krwi. Kolejnym typem zastawek są zastawki tętnicze: pnia płucnego i aorty, opisane szerzej w następnym podrozdziale pracy.

3.3 ZASTAWKI AORTALNE

Zastawki aortalne (łac. *valva aortae*), jak sama nazwa wskazuje, znajdują się w ujściu aorty, w miejscu odpływu krwi z lewej komory do dużego obiegu. Jest ono położone w przejściu lewego stożka tętniczego w aortę. Jego obwód jest różny w zależności od płci. U mężczyzn wynosi ok. 70 mm, natomiast u kobiet sięga 65 mm [2].



Rysunek 3.3. Zastawki tętnicze. Zastawka pnia płucnego: 11 - płatek przedni, 12 - płatek lewy, 13 - płatek prawy; Zastawka aorty: 14 - płatek lewy, 15 - płatek prawy, 16 - płatek tylny [3].

Zastawki aortalne składają się z trzech płatków półksiężycowatych (*lac. valvulae semi-lunares*; prawy, lewy i tylny) umocowanych w pierścieniach włóknistych aorty³. Są przyczepione do ścian aorty i mają kształt jaskółczych gniazd zwróconych wypukłościami do komory [2]. Każdy z nich składa się z włóknistego zrębu tkanki łącznej wiotkiej, który od strony komory pokryty jest wsierdziem, natomiast od strony aorty - błoną wewnętrzną. Jeden z brzegów jest przytwierdzony do pierścienia włóknistego okalającego ujście aorty, natomiast drugi, wolny, jest zwrócony w stronę światła tętnicy. Wzdłuż niego przebiega cienkie pasmo zwane Łąkotką płatka półksiężycowatego.

Każdy płatek zbudowany jest z 3 warstw: jednej zwróconej do światła naczynia, będącej odpowiednikiem błony wewnętrznej, warstwy obwodowej zbudowanej z wsierdzia oraz warstwy środkowej (blaszki właściwej) przedłużającej się w błonę środkową aorty. Składa się ona z ubogiej w komórki tkanki łącznej, której zadaniem jest wzmacnienie całej zastawki. Tu również przyczepiają się włókna mięśniowe sprawiając, że ich praca nie jest wyłącznie mechanizmem biernym, uwarunkowanym zmiennym ciśnieniem przepływającej krwi. Dodatkowo płatki posiadają nieliczne włókna nerwowe. Brak im natomiast własnych naczyń krwionośnych.

Praca zastawek tętniczych polega w skrócie na stykaniu się i otwieraniu wolnych brzegów płatków półksiężycowatych podczas rozkurczu i skurczu serca. Przepływająca krew wypełnia płatki, powodując ich uwypuklenie i zetknięcie wolnych brzegów (wzmocnionych na środku zgrubieniem zwanym grudką płatka półksiężycowatego) na kształt trójramiennej gwiazdy. Zapobiega to napływowi zwrotnej fali krwi do komory, w tym samym - jej mieszaniu się. Warto również wspomnieć, że zamknięte płatki zastawek aortalnych drgają w krwi wypełniającej serce i naczynia, prowadząc do powstania drugiego tonu serca [1][2]. W aorcie znajdują się również trzy uwypuklenia towarzyszące każdemu płatkowi, tzw. zatoki aorty, stanowiące razem opuszkę aorty.

³ Pierścienie włókniste pnia aorty są zbudowane podobnie, jak pierścienie włókniste przedsionkowo-komorowe, jednak są od nich mocniejsze oraz wyższe [2].

3.4 WADY ZASTAWKOWE SERCA

Serce jest organem, który pracuje nieustannie przez całe nasze życie. Niezwykle istotne jest zatem, aby funkcjonowało prawidłowo. Niestety, coraz częściej jest to utrudnione. Jedną z przyczyn są wady zastawkowe serca. Możemy do nich zaliczyć zarówno schorzenia dotyczące zastawki mitralnej (należącej do grupy zastawek żylnych, znajdującej się w lewym ujściu przedsięnkowo-komorowym): zwężenie oraz niedomykalność, jak również uszkodzenia zastawki aortalnej położonej w ujściu aorty, na których skupiono się w pracy magisterskiej i które zostaną szerzej opisane w kolejnym podrozdziale. Wśród nich wyróżniamy zwężenie zastawki aortlanej oraz jej niedomykalność [14]. Ich główną przyczyną jest kalcyfikacja płatków, czyli stopniowa mineralizacja tkanki miękkiej prowadząca do usztywnienia, które uniemożliwia prawidłową regulację przepływu krwi przez tenże aparat mechaniczny.



Rysunek 3.4. Pojedyncze płatki półksięgcowate zastawek aortalnych z widocznymi zwapnieniami.

3.4.1 NIEDOMYKALNOŚĆ ZASTAWKI AORTALNEJ

Niedomykalność zastawki aortalnej (ang. *Aortic Regurgitation, AR*) to dość częste schorzenie obserwowane, szczególnie w mało zaawansowanym stopniu, u dużego odsetka populacji [16]. Choroba ta przez wiele lat nie powoduje żadnych objawów, przez co jej diagnoza, a co za tym idzie - odpowiednio wczesne rozpoczęcie leczenia, jest bardzo trudne. Nie oznacza to jednak, że niemożliwe. W tym celu często wykorzystuje się badanie echokardiograficzne, głównie oparte na technice Dopplera.

Do przyczyn niedomykalności zastawki aortalnej można zaliczyć:

- zwyrodnienia ze zwapnieniem,
- poszerzenie ujścia aorty na skutek rozciągnięcia pierścienia zastawkowego występującego głównie na tle chorób układu krwionośnego, takich jak miażdżycą czy nadciśnienie tętnicze [17],
- choroba reumatyczna,
- infekcyjne zapalenie wsierdzia,
- wrodzone wady zastawkowe (dwupłatkowość występująca u ok. 1% populacji),
- rozwartwienia zastawki wstępującej,
- zespół Marfana⁴,
- urazy zastawki aorty,
- kiłowe zapalenie aorty,
- reumatoidalne zapalenie stawów (RZS).

Niedomykalność zastawki aortalnej może rozwijać się w dwóch postaciach - ostrej i przewlekłej (występującej znacznie częściej, niż postać ostra) [18]. Nieleczona może prowadzić do nieodwracalnego uszkodzenia funkcji lewej komory serca na skutek patologicznego, zwrotnego przepływu krwi z aorty [20]. Podczas klasyfikacji schorzenia uwzględnia się liczne wskaźniki, zarówno jakościowe, jak i ilościowe, które zamieszczono w tabeli 3.1.

Tabela 3.1. Klasyfikacja niedomykalności zastawki aortalnej (AR) u dorosłych [17]

Wskaźnik	Niedomykalność zastawki		
	Niewielka	Umiarkowana	Duża
Jakościowy			
Stopień angiograficzny	1+	2+	3-4+
Szerokość fali zwrotnej w badaniu techniką kolorowego Dopplera	Centralna fala zwrotna, szerokość <25% LVOT ⁵	Większa niż niewielka, ale bez cech dużej AR	Centralna fala zwrotna, szerokość >65% LVOT
Szerokość talii fali zwrotnej w badaniu dopplerowskim [cm]	<0.3	0.3-0.6	>0.6

⁴ Rzadka choroba tkanki łącznej o podłożu genetycznym powstająca na skutek mutacji genu fibryliny-1, prowadząca do zaburzenia pracy 3 układów: kostnego, krążenia i narządu wzroku. Chorzy posiadają ponadprzeciętny wzrost i nieproporcjonalnie długie kończyny; w obrębie układu krążenia dochodzi do poszerzenia i rozwartwiania się ścian aorty oraz powstawania tętniaków zagrażających życiu [19].

⁵ LVOT (ang. Left Ventricular Outflow Tract) - droga odpływu lewej komory [5].

Ilościowy (cewnikowanie serca lub echokardiografia)			
Objętość fali zwrotnej [ml/skurcz]	<30	30-0.59	≥60
Frakcja niedomykalności [%]	<30	30-49	≥50
Efektywna powierzchnia ujścia fali zwrotnej [cm ²]	<0.1	0.1-0.29	≥0.3
Inne istotne kryteria			
Wymiar lewej komory	-	-	Zwiększyony

3.4.1.1 PRZEWLEKŁA NIEDOMYKALNOŚĆ ZASTAWKI AORTALNEJ

Przewlekła niedomykalność zastawki aortalnej jest schorzeniem posiadającym długi okres bezobjawowy. Na skutek nieprawidłowej pracy zastawki dochodzi do spadku ciśnienia napełniania tętnicy. Serce, starając się skompensować braki, zwiększa objętość końcoworozkurczową i podatność ściany lewej komory, prowadząc do jej poszerzenia. Po jakimś czasie dochodzi do obciążenia objętościowego i ciśnieniowego oraz dalszego przerostu lewej komory. Proces jest jednak dość powolny, dlatego chory często nie zdaje sobie sprawy z powagi sytuacji. Gdy dojdzie do upośledzenia kurczliwości mięśnia sercowego, pojawiają się pierwsze symptomy w postaci duszności oraz dławicy piersiowej, zwłaszcza podczas wysiłku fizycznego. Wymiana zastawki w tym momencie daje jednakże dość słabe rokowania, bowiem śmiertelność wynosi ok. 10% [18]. Lewa komora nie jest już wtedy w stanie powrócić do pełnej sprawności na skutek długotrwałego działających na nią obciążień.

Niezuwykle ważne jest, aby wcześnie rozpoznać schorzenie i rozpocząć leczenie, polegające przeważnie na naprawie lub wymianie uszkodzonej zastawki na sztuczną (w przypadku dużej, zaawansowanej niedomykalności). Czasem zabieg wymaga również rekonstrukcji opuszki aorty, gdy jej poszerzenie jest większe lub równe 50 mm.

Rozpoznanie AR można dokonać na podstawie obecności szmeru rozkurczowego, dużej amplitudy tętna oraz tętnień lewej komory. Bardzo pomocne są w tym celu badania echokardiograficzne, RTG klatki piersiowej służące do oceny przerost sylwetki serca (tzw. serce bawole) oraz rezonans magnetyczny (MR) i cewnikowanie serca.



Rysunek 3.5. Echokardiografia przezklatkowa (projekcja koniuszkowa 4-jamowa) 23-letniego mężczyzny z bezobjawową niedomykalnością zastawki aortalnej; A - badanie wykonane techniką kolorowego Dopplera (widoczna fala niedomykalności zastawki aortalnej o szerokiej podstawie); B - ocena fali zwrotnej krwi przepływającej przez zastawkę aortalną wykonana techniką Dopplera ciągłego - widoczny jest szybki spadek prędkości fali wypełniającej lewą komorę (oznaczony strzałkami) [21].

3.4.1.2 OSTA NIEDOMYKALNOŚĆ ZASTAWKI AORTLANEJ

Znacznie groźniejszą i gwałtowniejszą w przebiegu wadą jest ostra niedomykalność zastawki aortalnej powstająca zwykle na skutek infekcyjnego zapalenia wsierdzia, urazów, czy też rozwarstwienia aorty. Dochodzi tu do bardzo szybkiego i katastrofalnego w skutkach wzrostu ciśnienia krwi napełniającej lewą komorę serca, prowadzące do jej niewydolności oraz zmniejszenia objętości wyrzutowej mięśnia sercowego [20]. Dzieje się tak, gdyż lewa komora nie jest w stanie szybko przystosować rozmiaru jamy do działającego na nią przeciążenia objętościowego. Na skutek tego u chorego dochodzi zwykle do duszności i tachykardii⁶, która stanowi pierwszy mechanizm wyrównawczy. To jednak często nie wystarcza, stąd też często pojawia się również obrzęk płuc.

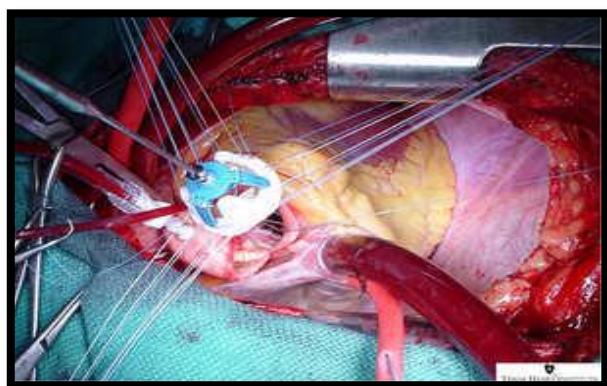
Lewa komora, zwiększając swoją objętość i zmniejszając grubość ścian, w połączeniu z tachykardią, prowadzi do zwiększenia zapotrzebowania mięśnia sercowego na tlen. Serce, bijąc szybciej, domaga się niejako więcej "pokarmu" w postaci tlenu, który jest niezbędny do tego, aby w mitochondriach powstała wystarczająca ilość energii zgromadzonej pod postacią ATP. Organizm jednak nie jest w stanie zapewnić jego wystarczającej ilości, stąd też u chorych często dochodzi do niedokrwienia, którego skutkiem

⁶ Przyspieszenie akcji serca na skutek stresu, wysiłku psychicznego lub fizycznego.

może być nawet zgon. To kolejne argumenty potwierdzające słuszność wczesnej diagnozy niedomykalności zastawki aortlanej.

Rozpoznania schorzenia można dokonać na podstawie wyników badania RTG klatki piersiowej (oszacowanie wielkości lewej komory), echokardiografii (oszacowanie niedomykalności zastawki i stwierdzenie, czy doszło do wyrównania ciśnienia rozkurczowego aorty i lewej komory), a także tomografii komputerowej (TK), rezonansu magnetycznego (MR) oraz echokardiografii przeprzekowej, w przypadku podejrzenia rozwarstwienia aorty.

Ostra postać AR zwykle wymaga interwencji chirurgicznej polegającej na wymianie uszkodzonej zastawki na sztuczną lub biologiczną [21]. Przed operacją chorym podawana jest dopamina lub dobutamina w celu obniżenia ciśnienia końcoworozkuczowego i zwiększenia objętości wyrzutowej krwi. Później, w przypadku wszczepienia sztucznej zastawki, pacjent musi do końca przyjmować doustnie antykoagulanty, aby zapobiec wystąpieniu powikłań zatorowo-zakrzepowych [21].



Rysunek 3.6. AVR (ang. Aortic Valve Replacement), czyli zabieg chirurgiczny polegający na zastąpieniu zastawki aortalnej sztuczną bioprotezą [22].

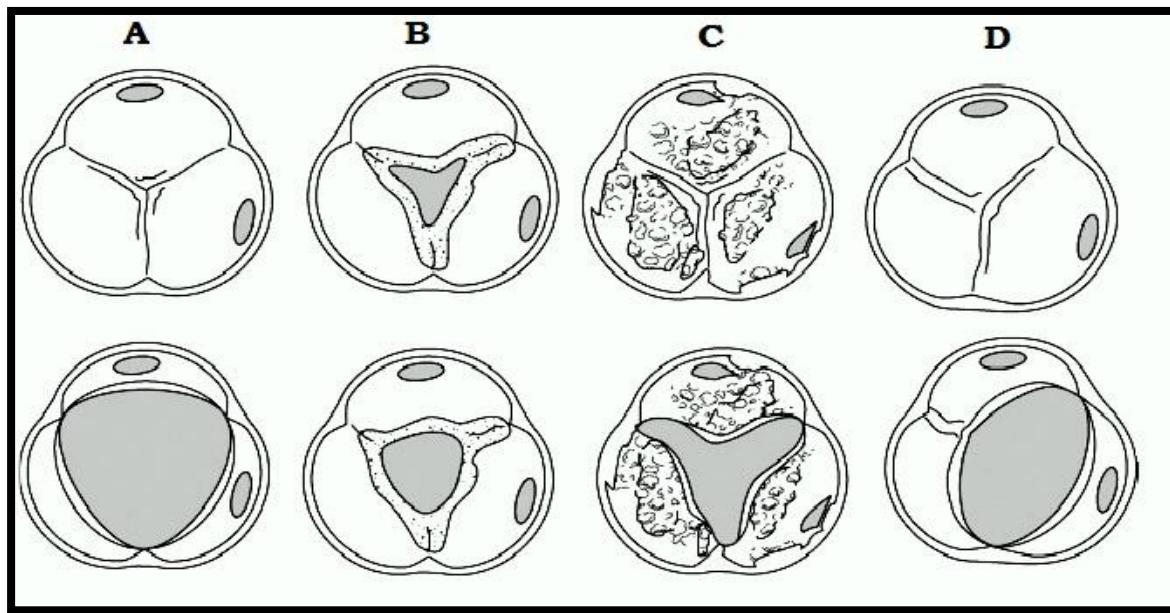
3.4.2 ZWĘŻENIE ZASTAWKI AORTALNEJ (STENOZA AORTALNA)

Zwężenie zastawki aortalnej (stenoza aortalna, zwężenie lewego ujścia tętniczego, ang. *aortic stenosis*, AS) to najpopularniejsza wada zastawkowa w Europie i Ameryce Północnej [4][8]. Znajduje się również w niechlubnej czołówce najczęściej występujących chorób układu krążenia, zaraz obok nadciśnienia tętniczego oraz choroby niedokrwiennej serca stających się w obecnych czasach chorobami cywilizacyjnymi [14]. Schorzenie to polega na zmniejszeniu powierzchni ujścia aorty utrudniającego wypływ

krwi z lewej komory serca [14]. Powoduje to przerost jej mięśniówki i zaburzenie prawidłowej pracy na skutek niewydolności krążenia wieńcowego, które nie jest w stanie dostarczyć wystarczającej ilości tlenu (podobnie, jak w przypadku niedomykalności zastawki aortalnej opisanej w poprzednim podrozdziale), prowadząc do pojawienia się u chorego objawów w postaci duszności omdleń, obrzęku płuc, zaburzeń widzenia, a także rozwinięcia się choroby niedokrwiennej serca. Po ich wystąpieniu przeżycie wynosi przeciętnie 2-3 lata. Towarzyszy temu również wzrost ryzyka zgonu [4].

3.4.2.1 ETIOLOGA STENOZY AORTALNEJ

Stenoza aortalna jest chorobą przewlekłą, która przez długi okres czasu przebiega bezobjawowo. Wada ta może być nabyta lub wrodzona (zastawka dwupłatkowa⁷). W pierwszym przypadku mowa jest o degeneracyjnym (starczym) zwężeniu ujścia aorty związanym bezpośrednio z wiekiem pacjenta lub reumatycznym zwężeniu zastawki aortalnej, powstającym najczęściej w wyniku choroby reumatycznej serca [4][14].



Rysunek 3.7. Etiologia stenozy aortalnej; górny rzząd prezentuje zamkniętą zastawkę, dolny - otwartą. A - normalna, zdrowa zastawka aortalna, B - nabyta wada zastawkowa o podłożu reumatycznym, C - zastawka aortalna ze zwapieniami, D - wrodzona wada zastawkowa (zastawka dwupłatkowa) [5].

⁷ BAV (ang. *Bicuspid Aortic Valve*), czyli zastawka dwupłatkowa to wrodzona wada występująca u ok. 1% populacji na świecie [13]; zastawka aortalna posiada 2 płatki półksiężycowate zamiast 3. Najczęściej (u ok. 80% osób z tą wadą) zrastają się ze sobą prawy i lewy płatek półksiężycowaty, u pozostałych 20% - łączą się lewy z tylnym [5].

W obecnych czasach za najczęściej występującą etiologię zwężenia zastawki aortalnej można uznać stenozę degeneracyjno-zwapnieniową związaną bezpośrednio ze starzeniem się społeczeństwa. Cierpi na nią ok. 2-7% populacji osób powyżej 65. roku życia [4]. Jej rozwój polega na gromadzeniu się złogów wapiennych w tkance miękkiej płatków półksięzycowatych. Mechanizm i przyczyny ich odkładania się nie są do końca poznane. Istnieją przesłanki, że proces ma charakter aktywny (nie jest zatem, zgodnie z wcześniejszymi przekonaniami, łagodnym następstwem starzenia się organizmu) i angażuje mechanizmy zapalne oraz immunologiczne, podobnie jak w przypadku innej choroby układu krążenia: miażdżycy [4].

3.4.2.2 KLASYFIKACJA ZWĘŻENIA ZASTAWKI AORTALNEJ

Stopień zwężenia zastawki aortlanej (AS) określa się na podstawie wartości szeregu parametrów hemodynamicznych wyznaczanych podczas badań, głównie echokardiograficznych, które wyparły stosowane wcześniej cewnikowanie serca (tab. 3.2) [5][21]. Należą do nich: maksymalna prędkość przepływu krwi przez zastawkę (V_{max}), średni i maksymalny gradient (odpowiednio ΔP_{mean} oraz ΔP_{max}), a także powierzchnia ujścia aorty (AVA).

Tabela 3.2. Klasyfikacja zwężenia zastawki aortlanej [5][21].

Parametr	Stenoza aortalna (AS)			
	Łagodna	Umiarkowana	Umiarkowanie ciężka	Ciężka
Maksymalna prędkość przepływu krwi przez zastawkę, V_{max} [m/s]	2.6-2.9	3.0-3.5	3.5-4.0	>4.0
Średni gradient ciśnienia krwi, ΔP_{mean} [mmHg]	<20	20-35	36-50	>50
Maksymalny gradient ciśnienia krwi, ΔP_{max} [mmHg]	16-36	36-50	50-80	>80
Pole powierzchni ujścia aorty, AVA (Aortic Valve Area) [cm^2]	>1.5	1.0-1.5	-	<1
Wskaźnik powierzchni ujścia (Indexed AVA) [cm^2/m^2]	>0.5	0.25-0.5	-	<0.25

Maksymalną prędkość przepływu krwi przez aortę rośnie wraz ze stopniem zaawansowania stenozy. Jest ona wyznaczana jako największa wartość sygnału w danym oknie pomiarowym podczas wykonywania badania ultrasonograficznego w technice ciągłego Dopplera (ang. *Continuous-wave Doppler, CWD*) [5].

Kolejne parametry, średni i maksymalny gradient ciśnienia krwi (P_{mean} , P_{max}), są różnicą ciśnienia krwi w lewej komorze i aortie w trakcie skurcza. Wyznacza się je na podstawie prędkości przepływu krwi przez tętnicę główną, korzystając ze wzoru Bernoulli'ego:

$$\Delta P_{max} = 4V_{max}^2 \quad (3.1) [5],$$

$$\Delta P_{max} = 4V_{max}^2 \quad (3.2) [5].$$

Interpretacja wyznaczonych wartości ciśnienia krwi przepływającej przez aortę pozwala wstępnie oszacować stopień zwężenia zastawki aortlanej. Im poważniejsze schorzenia, tym większe obserwowane różnice ciśnienia krwi napierającej na płatki półksiężycowe w trakcie skurcza lewej komory serca.

Opisane wyżej parametry są ścisłe zależne od przepływu krwi, którego wahania podczas wykonywania badania ultrasonograficznego w technice dopplerowskiej mogą być znaczne. Warto zatem podczas klasyfikacji stenozy uwzględnić czynniki niezależne od prędkości przepływającej krwi. Tu z pomocą przychodzi powierzchnia ujścia aorty. Zgodnie z logicznym rozumowaniem, na skutek odkładających się złogów wapiennych lub choroby reumatycznej serca prawidłowa praca zastawek aortalnych jest zaburzona. Płatki półksiężycowe są bardziej sztywne, co skutkuje niedomykalnością, bądź zmniejszeniem powierzchni ujścia aorty (ang. *Aortic Valve Area, AVA*). Można ją obliczyć, bazując na powierzchni przekroju poprzecznego ujścia lewej komory serca, prędkości wypływu krwi z serca oraz przepływu przez zastawkę aortalną:

$$AVA = \frac{CSA_{LVOT} \cdot V_{LVOT}}{V_{AV}} \quad (3.3) [5],$$

gdzie:

AVA - powierzchnia ujścia zastawki aortalnej (ang. Aortic Valve Area),

CSA_{LVOT} - powierzchnia przekroju poprzecznego ujścia lewej komory serca (ang. Cross Sectional Area of Left Ventricular Outflow Tract),

V_{LVOT} - prędkość wypływu krwi z lewej komory serca,

V_{AV} - prędkość przepływu krwi przez zastawę aortalną (AV - ang. Aortic Valve).

3.4.2.3 PRZEBIEG ZWĘZENIA ZASTAWKI AORTLANEJ

Rozwój stenozy aortalnej u dorosłych jest stopniowy, przez długie lata niemal bezobjawowy. Zwężeniu ujścia tętnicy głównej towarzyszy pogrubienie ścian lewej komory serca, która stara się dostosować do wzrastającego ciśnienia skurczowego krwi. Jeśli przerost ten jest niedostateczny, może dojść do spadku frakcji wyrzutowej mięśnia sercowego, który nie radzi sobie ze wzrastającym obciążeniem następczym, czyli skurczowym napięciem ściany lewej komory. Na skutek tych zmian pojawiają się nieprawidłowości w dystrybucji przepływu wieńcowego, a w związku z tym - jego niedotlenie [21].

Ze względu na długi okres bezobjawowy, wczesne rozpoznanie schorzenia i jego klasyfikacja są niezmiernie trudne. Przypuszczenie o wadzie zastawkowej u chorego daje obecność skurczowego szmeru wyrzutowego serca, którego nie da się wyraźnie odróżnić od drugiego tonu serca. Często stenozę aortalną rozpoznaje się na podstawie parametrów hemodynamicznych wyznaczanych podczas echokardiografii dopplerowskiej, z czego najważniejsze to maksymalna prędkość przepływu krwi przez zastawkę (V_{max}) oraz średni i maksymalny gradient ciśnienia krwi (ΔP_{mean} , ΔP_{max}) [15][21]. Pozwalają one oszacować stopień zwężenia, jednak nie są pozbawione wad, biorąc pod uwagę miarodajność wyników. Ze względu na nierównoległe ułożenie wiązki ultradźwięków względem przepływającego strumienia krwi może dojść do błędów powodujących niedoszacowanie wady i błędna klasyfikację jej progresji.

O problemach zastawkowych chory dowiaduje się przeważnie wtedy, gdy na własne oczy zauważa pierwsze objawy, takie jak dławica piersiowa, niewydolność serca, czy omdlenia. Są one bardzo niepokojącym sygnałem, bowiem świadczą w głównej mierze

o wysokim już stopniu zwężenia zastawki, którego leczenie polega na chirurgicznej wymianie zastawki aortalnej na sztuczną protezę. Jeśli zabieg nie zostanie wykonany, rokowanie chorego pogarsza się dramatycznie, gdyż przeżyje on jedynie ok. 2-3 lat, dodatkowo ze sporym ryzykiem nagłego zgonu.

Nie u wszystkich chorych przebieg choroby jest jednakowo szybki. Wpływa na niego szereg czynników, do których można zaliczyć: miażdżycę (u ok. 40% chorych ze stenozą aortalną stwierdzono obecność zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych), hipercholesterolemię, starycę wieku, zaburzenia w gospodarce wapniowej, niewydolność nerek, obecność zwieńień, przyrost prędkości przepływu krwi przez zastawkę oraz wzrost gradientu ciśnień [4].

Według wyników badań *Cardiovascular Health Study* szereg czynników ryzyka miażdżycy, takich jak płeć, wiek, nadciśnienie tętnicze, palenie papierosów, podwyższony poziom LDL, czy też dysfunkcja śródbłonka płatków zastawki, oraz zaburzenia pracy układu renina-angiotensyna-aldosteron, towarzyszą również odkładania się złogów wapiennych w płatkach półksiężycowatych, prowadzące do stenozy aortalnej. Proces ten znacznie wpływa na przeżywalność chorych, u których nie podjęto żadnych działań leczniczych. Według danych literaturowych przeżycie bez zdarzeń po roku wynosiło 60%, po 4 latach - już tylko 20% [4].

Poza wymienionymi wyżej parametrami, do czynników ryzyka stenozy aortalnej można zaliczyć również: płeć kobiecą, niewydolność nerek, hiperkalcemię⁸, nadczynność przytarczyc, powiększony lewy przedsionek serca, palenie papierosów, czy też cukrzycę [4][6][8].

3.4.2.4 LECZENIE STENOZY AORTLANEJ

Obecnie metodą leczenia dającą najlepsze rezultaty jest chirurgiczna wymiana zastawki aortalnej [4]. Nie istnieją skuteczne, dedykowane leki hamujące progresję zwężenia ujścia zastawki aortalnej, jednak lekarze nadal poszukują rozwiązania. Biorąc pod uwagę podobieństwa w narastaniu zwieńień będących główną przyczyną stenozy tętniczej oraz miażdżycy przypuszcza się, iż oba schorzenia można leczyć podobnymi far-

⁸ Hiperkalcemia to zwiększyony poziom wapnia we krwi na skutek przedawkowania witaminy, D, nowotworów kości, upośledzenia funkcji wydalniczej nerek, czy też hiperwitaminozy A [22].

maceutykami: statynami, które częściowo hamują odkładanie się złogów wapiennych w płatkach półksięzycowatych, a tym samym - progresję choroby oraz inhibitorami konwertazy angiotensyny (ACE-I) pomagającymi w wyrównaniu ciśnienia tętniczego krwi [4]. Wpływ drugich leków nie został jednoznacznie oceniony, dlatego prowadzone są dalsze badania w tym kierunku.

Jedyną w pełni skuteczną i szeroko stosowaną metodą leczenia zwężenia lewego ujścia tętniczego jest zabieg chirurgicznej wymiany zastawki aortalnej na sztuczny zamiennik, który ma pełnić organizmie jej funkcję. Rozwiążanie to jest dość radykalne i może być zastosowane u osób głównie w umiarkowanym stadium choroby. Przy ostrej stenozie dochodzi bowiem do znacznego przerostu lewej komory serca na skutek jej przeciążenia, co prowadzi do skrajnej, nieodwracalnej niewydolności mięśnia sercowego, który już nigdy nie będzie w stanie prawidłowo funkcjonować. W tym przypadku wymiana zastawki może nie dawać pożdanego skutku.

3.5 KALCYFIKACJA ZASTAWEK AORTALNYCH

Jak wspomniano we wcześniejszych podrozdziałach, jedną z głównych przyczyn powstawania wad zastawkowych należących do najczęstszych schorzeń układu krwionosnego jest odkładanie się złogów wapiennych w tkance miękkiej płatków zastawek (głównie w śródblonku) lub w obrębie pierścienia zastawkowego (rzadziej) [7][8]. Powodują one zwiększenie sztywności ściany aorty prowadzące do wzrostu skurczowego ciśnienia tętniczego, a w rezultacie - przerostu lewej komory serca. W ten sposób mięsień sercowy stara się przeciwwstać działającemu na niego obciążeniu następczemu [7]. Początkowo proces ten uznawany był za degeneracyjne, bierne następstwo zmian miażdżycowych, jednak na podstawie późniejszych badań wykazano jego aktywną naturę, angażującą komórki tkanki kostnej - osteoblastów.

Patogeneza kalcyfikacji naczyń krwionośnych oraz zastawek serca nie jest dokładnie poznana, jednak istnieją dość silne przesłanki o jej wieloczynnikowym charakterze.

Duże znaczenie mają tu zaburzenia metaboliczne w organizmie, do których można zaliczyć wahania poziomu wapnia i fosforu w surowicy krwi, a także podwyższone stężenie kreatyniny, co wynika z badań nad kalcyfikacją u osób cierpiących na przewlekłą niewydolność nerek [7].

Powstawanie zwapnień w obrębie płatków półksiężycowatych zastawek aortalnych jest procesem aktywnym, związanym ze zmianami miażdżycowymi w obrębie tętnic, angażującym komórki mięśni gładkich ścian naczynia [7]. Mają charakter dystroficzny i powiadają się jako wynik wieloletniego działania sił ścinających nasilających się pod wpływem stanu zapalnego, stąd też istotnym markerem podczas badań histopatologicznych jest białko C-reaktywne (CRP). Podczas obserwacji tkanki łącznej zastawek można zauważać nagromadzenie się lipidów oraz wapnia, nieprawidłową organizację elastyny, obecność zwłóknień oraz nacieków limfocytów T oraz makrofagów, co świadczy o aktywności układu immunologicznego [9].

Kalcyfikacja może być regulowana przez układ hormonalny. Istotną rolę odgrywającą w tym przypadku: kalcytriol (wpływający na homeostazę poprzez utrzymywanie właściwego poziomu witaminy D3) oraz parathormon (PTH), którego zwiększone stężenie ogranicza odkładanie się wapniowych depozytów w śródbłonku naczyń krwionośnych oraz w obrębie tkanki miękkiej płatków półksiężycowatych. Ciekawym spostrzeżeniem jest również wpływ żeńskich hormonów płciowych - estrogenów, na proces wapnienia. Udowodniono, że kobiety w wieku pomenopauzalnym, u których stężenie estrogenu znacznie się obniża, są bardziej podatne na powstawanie zmian zapalnych oraz aktywacji komórek kalcyfikujących, w tym osteoblastów [9].

Odkładanie się aglomeratów wapiennych w obrębie ścian naczyń krwionośnych oraz zastawek serca wpływa na zwiększenie ich sztywności, zmniejszenie elastyczności, wpływając tym samym na wartości parametrów hemodynamicznych układu krążenia, jak maksymalna prędkość przepływu krwi przez zastawkę, ciśnienie skurczowe i rozkurczowe, maksymalny i średni gradient ciśnienia krwi, czy też frakcję wyrzutową serca. Do oceny stopnia zaawansowania procesu wapnienia, a tym samym ocenę stanu chorego niezbędną do podjęcia odpowiedniego leczenia, można wykorzystać skalę przedstawioną w tabeli 3.3 [7].

Tabela 3.3. Klasifikacja stopnia zwapnienia zastawek [7].

Stopień zaawansowania	Opis
0	Całkowity brak złogów w obrębie zastawki.
1	Pogrubienie płatków półksiężycowatych, brak zwapnień.
2	Niewielkie, drobne złogi wapienne w obrębie tkanki miękkiej zastawki.
3	Duże, łatwe do zauważenia zwapnienia.
4	Masywne, duże zwapnienia zaburzające ruchomość płatków zastawki.

Ze względu na powagę schorzenia, jakim jest odkładanie się złogów wapiennych w obrębie ścian naczyń krwionośnych oraz zastawek serca, nieustannie poszukuje się skutecznego sposobu leczenie, który zahamowałby progresję tego procesu. Duże nadzieje pokłada się w lekach stosowanych przy osteoporozie: kalcyriolu, estradiolu i bifosfonianach, a także w farmaceutykach powszechnie wykorzystywanych do leczenia popularnych chorób układu krwionośnego: statynach, inhibitorach konwertazy angiotensyny, heparynie, czy antagonistach wapnia [9].

3.6 BADANIA MIKROTOMOGRAFICZNE ZASTAWEK AORTLANYCH

Wady zastawkowe są przedmiotem badań już od wielu lat. Niestety, dotychczas stosowane metody pozwalają wykryć schorzenie znajdujące się najczęściej w umiarkowanym lub ciężkim stadium zaawansowania. Zastosowanie leczenia farmakologicznego w tym przypadku nie daje pozytywnych rezultatów, pacjenci są poddawaniu zabiegowi chirurgicznego zastąpienia zmienionej chorobowo zastawki na sztuczny zamiennik w postaci bioprotezy. Rozwiążanie to jest radykalne, jednak daje dość duże szanse na przeżycie, stąd też powszechność jego stosowania.

Pozostaje zadać sobie pytanie - czy istnieją sposoby, dzięki którym wczesna diagnoza rozwijających się wad zastawkowych nie będzie jedynie marzeniem, bądź szczęśliwym

zrządzeniem losu? Czy uda się dokładnie poznać etiologię i czynniki ryzyka kalcyfikacji, co pozwoli na rozpoczęcie działań profilaktycznych i odpowiednio wczesne wkroczenie ze skutecznym leczeniem?

W ramach pracy magisterskiej podjęto próbę powiązania danych klinicznych pacjentów ze Szpitala Jana Pawła II w Krakowie, którzy zostali poddani zabiegowi chirurgicznego wycięcia zastawki aortalnej i zastąpienia jej sztuczną bioprotezą, z parametrami morfologicznymi złogów wapiennych odkładających się w płatkach półksiężycowatych, będących bezpośrednią przyczyną zwężenia ujścia aortalnego oraz niedomykalności zastawki. Wielkości te wyznaczono na podstawie analizy obrazów otrzymanych przy pomocy wysokorozdzielczej techniki badawczej wykorzystującej promieniowanie rentgenowskie do określenia struktury wewnętrznej obiektów - **mikrotomografii komputerowej** (ang. *MicroComputed Tomography, µCT*) [11]. Dzięki właściwości materii, jaką jest różna wartość współczynnika pochłaniania promieniowania X dla obszarów o różnej gęstości można nieinwazyjnie, a co najważniejsze - bardzo precyzyjnie, bo z rozdzielcością sięgającą ułamków mikrometra, ocenić m.in. średni rozmiar grudki, objętość i powierzchnię złogów, ich zawartość procentową w tkance miękkiej płatka, czy rozkład gęstości w obrębie pojedynczego aglomeratu.

Zarówno przeprowadzone badania mikrotomograficzne, jak i próba powiązania ich z wynikami badań klinicznych pacjentów mają charakter eksperymentalny. Głównym celem podjętych starań jest odkrycie potencjalnych czynników ryzyka kalcyfikacji, których późniejsze wyeliminowanie bądź leczenie przyczyni się pozytywnie do zmniejszenia odsetka populacji cierpiącego na niedomykalność zastawki aortalnej lub zwężenie ujścia aortalnego - najczęstsze wady zastawkowe układu krążenia zaburzające jego prawidłowe funkcjonowanie.

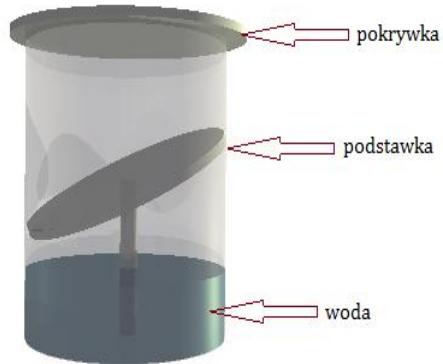
3.6.1 APARATURA POMIAROWA I METODYKA PRZEPROWADZANYCH BADAŃ

Do zbadania płatków półksiężycowatych ze zwapnieniami techniką mikrotomografii komputerowej wykorzystano nowoczesny, wysokorozdzielczy (rozdzielcość sięga poniżej 0.5 µm) nanotomograf Nanotom® S (rys. 3.8) znajdujący się w Laboratorium Mikro i Nano Tomografii Wydziału Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH. Urządzenie to jest wyposażone w otwartą lampa rentgenowską o maksymalnym napięciu zasilania

180 kV, z wymienną katodą oraz okienkiem - anodą wolframową lub molibdenową, wykorzystywaną głównie do badania próbek biologicznych oraz planarny detektor (matryca CCD) i obrotową podstawkę na próbkę [11].



Rysunek 3.9. Nanotom® S [13]



Rysunek 3.8. Plastikowy pojemnik na płatki półksiężycowe

Płatki półksiężycowe badano w 4 seriach, każdorazowo zachowując te same warunki początkowe, aby wyniki były możliwe do porównania. Napięcie na lampie wynosiło 60 kV, a natężenie prądu anodowego 230 μ A. W każdym skanie, czyli pojedynczym zdjęciu rentgenowskim, wykonywano pod 1400 projekcji trwających po 0.5 s, zmieniając kąt wiązki padającej poprzez rotację próbki. Dzięki temu, po późniejszej rekonstrukcji, można otrzymać informacje o trójwymiarowej strukturze wewnętrznej próbki, bez inwazyjnej ingerencji mechanicznej. W celu wyeliminowania artefaktów wynikających z wad działania układu obracającego (stolika), ostateczny obraz powstawał poprzez uśrednianie 4 kolejnych zdjęć. Dodatkowo, każdą badaną zastawkę umieszczało się w specjalnie zaprojektowanym, plastikowym, szczerelnie zamykanym pojemniku z podstawką (rys. 3.9), do którego wlewano niewielką ilość wody, aby w ten sposób zapobiec deformacji próbki w trakcie pomiaru poprzez jej wysychanie.

Ze względu na różnorodność zastawek, zarówno ich wielkości, jak i kształtu wynikającego z pofałdowania (rys. 3.4), do każdej dobierano indywidualnie rozdzielcość, z jaką wykonywany był pomiar tak, aby pole pomiarowe obejmowało każdą z nich w całości.

Ich wartości wały się od 12 µm do 16 µm. Następnie dane w postaci cyfrowej zapisywano w pamięci komputera i poddawano wstępnej obróbce za pomocą programu graficznego dostępnego w pracowni - *VGStudio MAX 2.1* firmy *Volume Graphics*. Polegała ona na wycięciu elementów nie niosących istotnych wiadomości, jak np. fragmenty podstawki i pojemnika, czy też obrotowego stolika. Dodatkowo przekonwertowano dane z 32 bitów na 8 bitów, co znacznie zmniejszyło ich rozmiar (z ok. 40 GB do ok. 4 GB dla pojedynczej próbki) oraz obciążenie pamięci operacyjnej komputera podczas dalszych analiz jakościowych i ilościowych grudek wapiennych w bezpłatnym, dostępnym w domenie publicznej programie *Fiji* - dystrybucją znanego programu *ImageJ* wykorzystywanego powszechnie do analizy obrazów.

3.6.2 ANALIZA JAKOŚCIOWA I ILOŚCIOWA BADANYCH PRÓBEK - METODYKA I OTRZYMANE WYNIKI

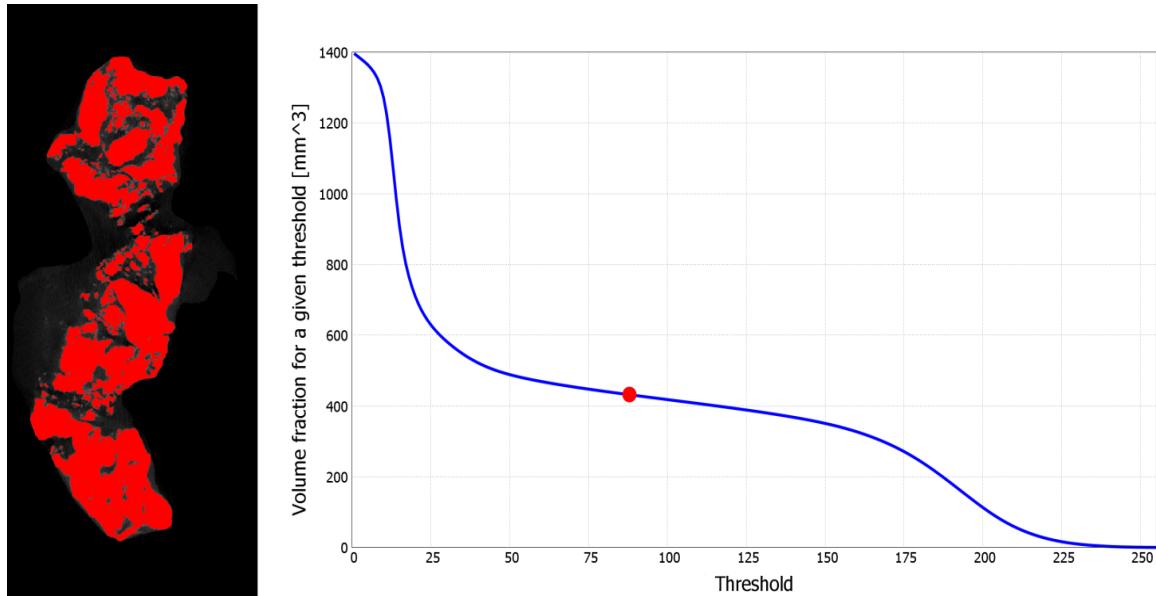
3.6.2.1 ANALIZA JAKOŚCIOWA

Obrazy uzyskane na drodze rekonstrukcji i wstępnej obróbki danych mikrotomograficznych poddano na początek analizie jakościowej, która opierała się na oszacowaniu progu separującego złogi wapienne od tkanki miękkiej (ang. *threshold*), dzięki któremu możliwa była późniejsza binaryzacja i wyznaczenie parametrów grudek, sporządzenie histogramów gęstości (oddziennie dla zwieńczeń i pozostałej części płatka zastawki aortalnej) oraz ich analiza statystyczna. Wszystkie operacje wykonano w programie *Fiji*.

W pierwszej kolejności zajęto się wyznaczeniem dla każdej próbki indywidualnego progu separującego złogi od reszty płatka zastawki aortalnej. Bazowano na krzywej progowania będącej wykresem zależności objętości frakcji dla danego poziomu jasności w zakresie 1-255 (wynik działania operacji *Volume Fraction*⁹ znajdującej się we wtyczce *BoneJ* do *Fiji*), a tymże poziomem (rys. 3.10). Obrazy poddano wcześniej dzia-

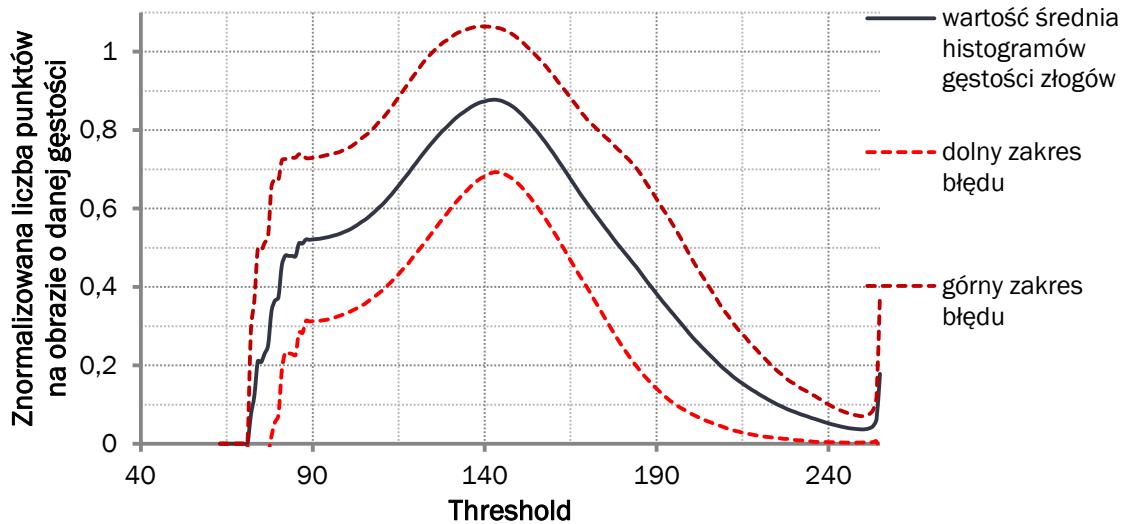
⁹ Metoda wyznaczająca objętość badanego obiektu na podstawie obrazu binarnego o zadanym progu binaryzacji. Jej działanie opiera się na dopasowywaniu siatki do obiektu, lub wypełnianiu jego powierzchni voxelami o zadanej wielkości, których liczba może w przybliżeniu określić wielkość badanej struktury [25].

łaniu filtra medianowego. Nałożenie maski o rozmiarze 3×3 piksele i zastąpienie wartości średkowego piksela medianą wyznaczonych w ten sposób sąsiadów poprawiło jakość, redukując szумy. Punkt przegięcia krzywej miał stanowić interesujący próg binaryzacji obrazu. Jak się okazało, jego jednoznaczne określenie było bardzo trudne, głównie ze względu na obszar *plateau*, który obserwowało dla większości przypadków. W związku z tym bazowano również na ocenie wizualnej przekrojów.



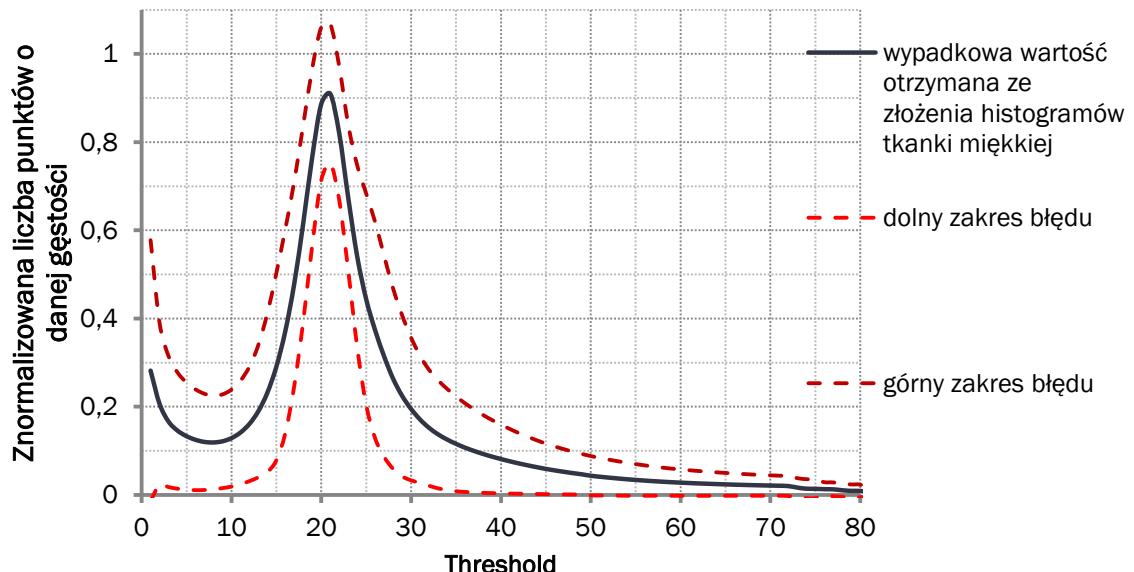
Rysunek 3.10. Krzywa progowania dla zastawki Z16 z zaznaczoną wartością obranego progu jasności (po prawej), na podstawie której dokonano binaryzacji obrazu (po lewej); kolorem czerwonym zaznaczono obszar, jaki zajmują złogi wapienne.

Po wybraniu wartości progów binaryzacji przystąpiono do sporządzenia histogramów gęstości bazujących na poziomach jasności dla tkanki miękkiej oraz złogów wapiennych. Znormalizowano je względem wartości maksymalnej, by w ten sposób możliwe było ich porównanie między sobą, następnie odrzucono całą I serię (ze względu na awarię sprzętu, jaka miała miejsce po tychże pomiarach) oraz kilka pojedynczych przypadków z II i III serii (znacznie odbiegających od reszty), uśredniono pozostałe wartości i sporządzono jeden wykres zbiorczy, na którym dodatkowo zaznaczono obszar błędu (określony na podstawie odchylenia standardowego). Otrzymane wyniki przedstawiono na wykresach 3.1 i 3.2.



Wykres 3.1. Wykres zbiorczy średniej wartości histogramów gęstości złogów wapiennych (granatowa linia) dla płatków zastawek aortalnych z II i III serii pomiarowej (po odrzuceniu kilku próbek wyraźnie odbiegających od średniej) wraz z zaznaczonym obszarem błędu (czerwona, przerywana linia).

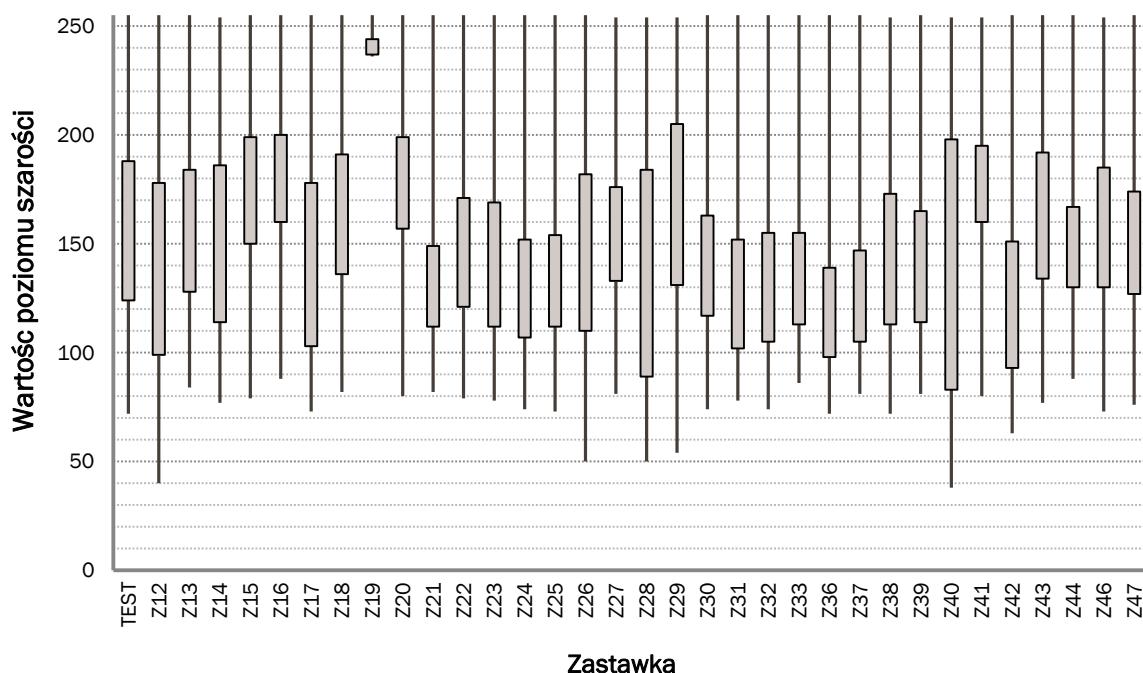
Na podstawie uśrednionego wykresu zbiorczego histogramów jasności dla złogów wapiennych można powiedzieć, że wartość gęstość waha się w okolicach 140. Owe odstępstwa (duży zakres błędu i szerokość połówkowa piku) są zapewne wynikiem różnego wysycenia aglomeratów solami wapnia.



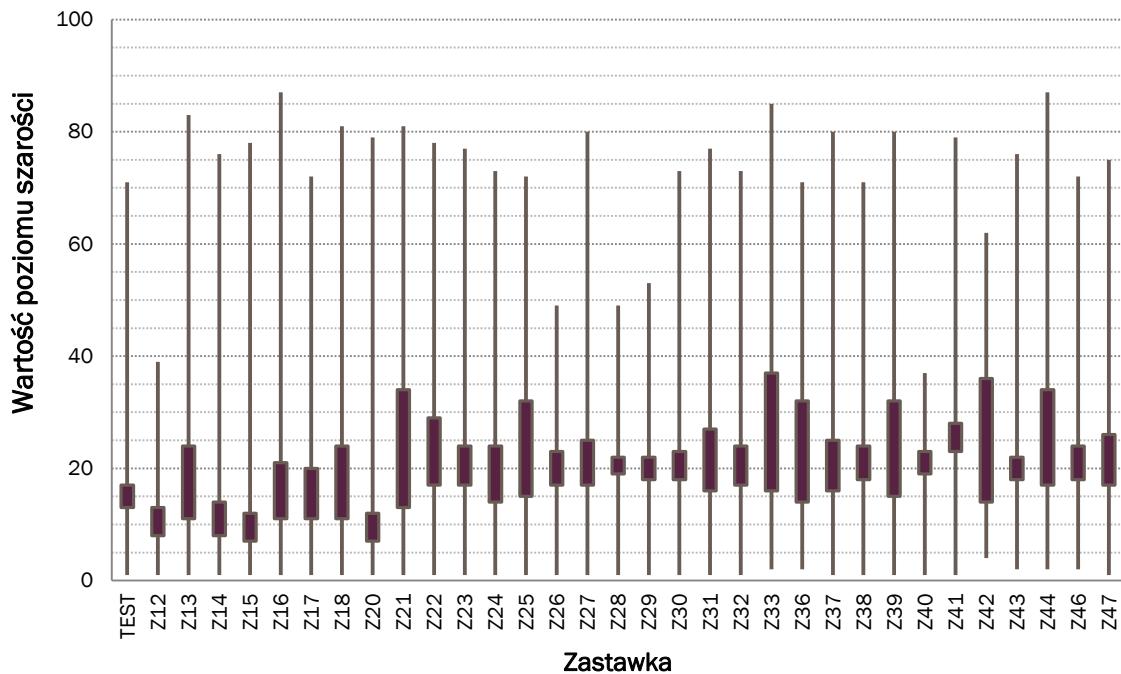
Wykres 3.2. Wykres zbiorczy średniej wartości histogramów gęstości tkanki miękkiej płatków półksiężycowatych (granatowa linia) dla płatków zastawek aortalnych z II i III serii pomiarowej (po odrzuceniu kilku próbek wyraźnie odbiegających od średniej) wraz z zaznaczonym obszarem błędu (czerwona, przerywana linia).

Wykres 3.2 pokazuje, że tkanka miękka płatków zastawek nie jest istotnie zróżnicowana pod względem gęstości, ponieważ obserwowany pik jest bardzo wąski i posiada niewielki zakres błędu. Położenie maksimum krzywej wskazuje wartość ok. 20 sugerującą obecność pierwiastków lekkich, z których (jak wiadomo) składa się większość ludzkiego ciała. Są one składnikiem budulcowym tkanek, stąd też można uznać poczytione obserwacje za zgodne z teoretycznymi przewidywaniami.

Po makroskopowej analizie jakościowej histogramów skupiono się na dokładniejszych obserwacjach gęstości złogów i tkanki miękkiej płatków. W tym celu sporządzono wykresy pudełkowe bazujące na rozstępie kwartylnym między ilością zliczonych pikseli o określonym poziomie jasności. Są to wielkości, dzięki którym można w łatwy i zrozumiałą sposób określić stopień zróżnicowania badanej cechy (tym przypadku rozłożenia gęstości w obrębie płatka), bazując na szerokości zakresu wartości ją opisujących, począwszy od $\frac{1}{4}$ całości, a kończąc na $\frac{3}{4}$.



Wykres 3.3. Analiza statystyczna histogramów gęstości dla złogów wapiennych

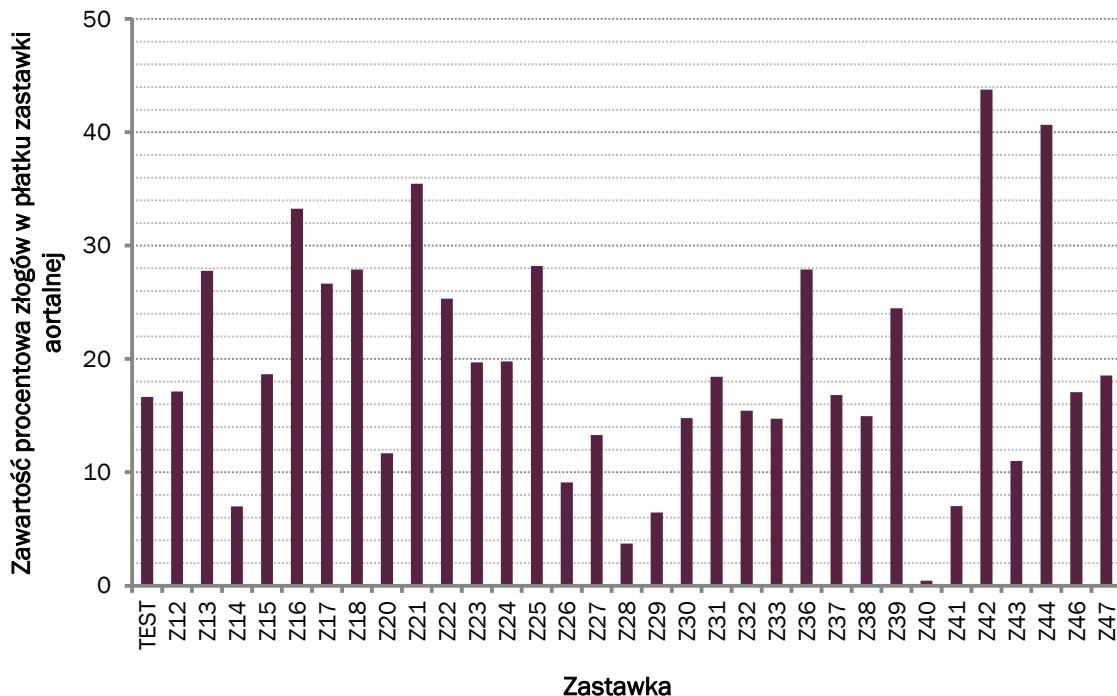


Wykres 3.4. Analiza statystyczna histogramów gęstości dla tkanki miękkiej płatków zastawek aortalnych.

Oba wykresy - 3.3 i 3.4 - potwierdziły wcześniejsze spostrzeżenia, że złogi są znacznie zróżnicowane pod względem gęstości (duży rozstęp kwartylny) i nie istnieje jednoznaczna wartość średnia poziomu jasności, jaką można by było przypisać do wszystkich próbek. W przypadku tkanki miękkiej mamy natomiast do czynienia z dużą jednorodnością składu, co jest zgodne z przypuszczeniami teoretycznymi.

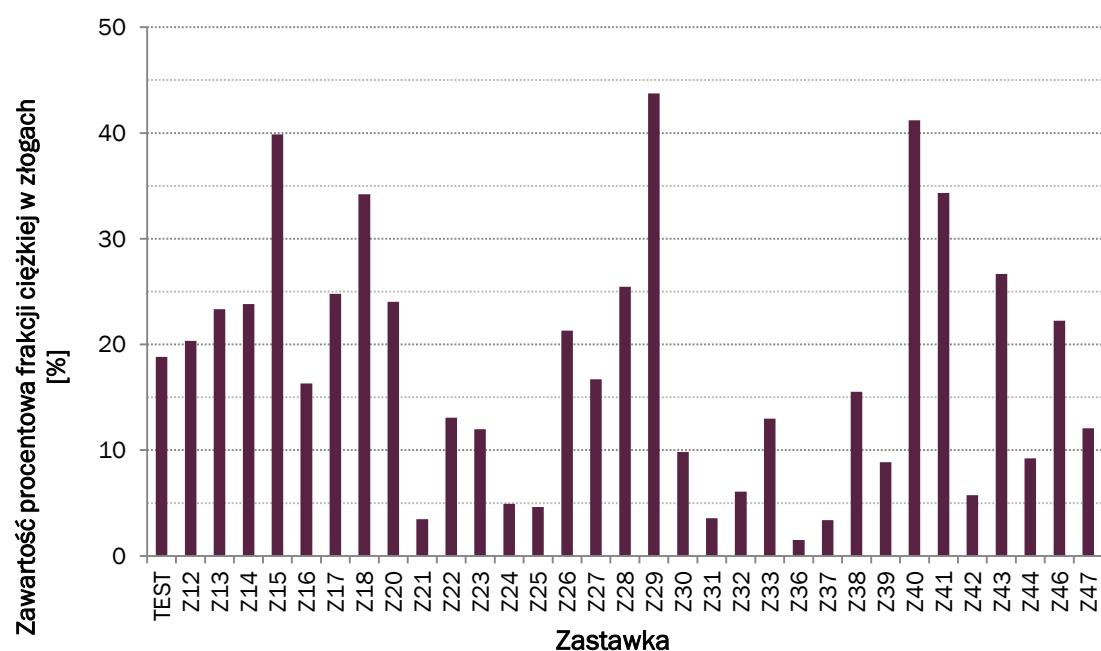
3.6.2.2 ANALIZA ILOŚCIOWA

Wyznaczenie wartości liczbowych charakteryzujących złogi, zwane analizą ilościową, przeprowadzono na zbinaryzowanych obrazach. Jako próg separujących wybrano 70, gdyż okazało się to dość dobrym rozwiązaniem w przypadku wszystkich próbek, co było niezwykle ważne pod względem jednolitości stosowanej procedury. Obrazy mikrotomograficzne obrabiano za pomocą programu *Fiji*, korzystając z wtyczki *BoneJ*, badając takie parametry, jak: wielkość płatka, jego objętość i stopień pofałdowania, zawartość procentową złogów, ich objętość, stopień pofałdowania i powierzchnię, udział frakcji ciężkiej w zwapnieniach oraz średnią wielkość pojedynczej grudki. Zestawienie otrzymanych wyników przedstawiono na wykresach 3.5-3.8.



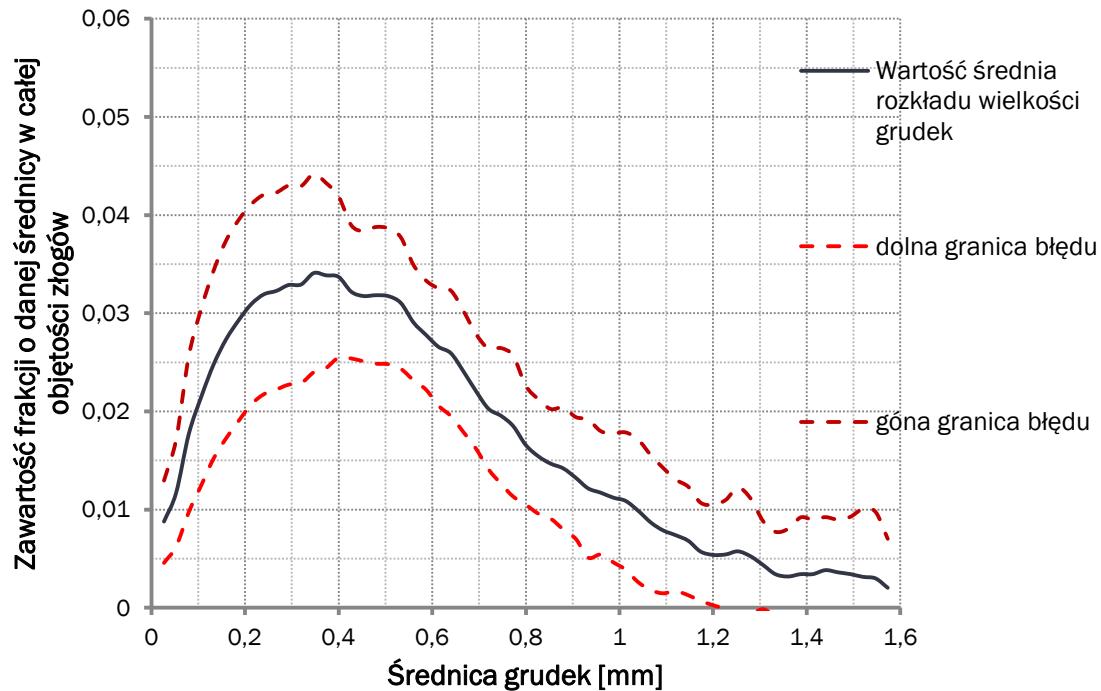
Wykres 3.5. Zawartość procentowa złogów wapiennych w płatkach zastawek aortalnych

W wielu zastawkach zawartość procentowa złogów wała się w granicach 15-20%.



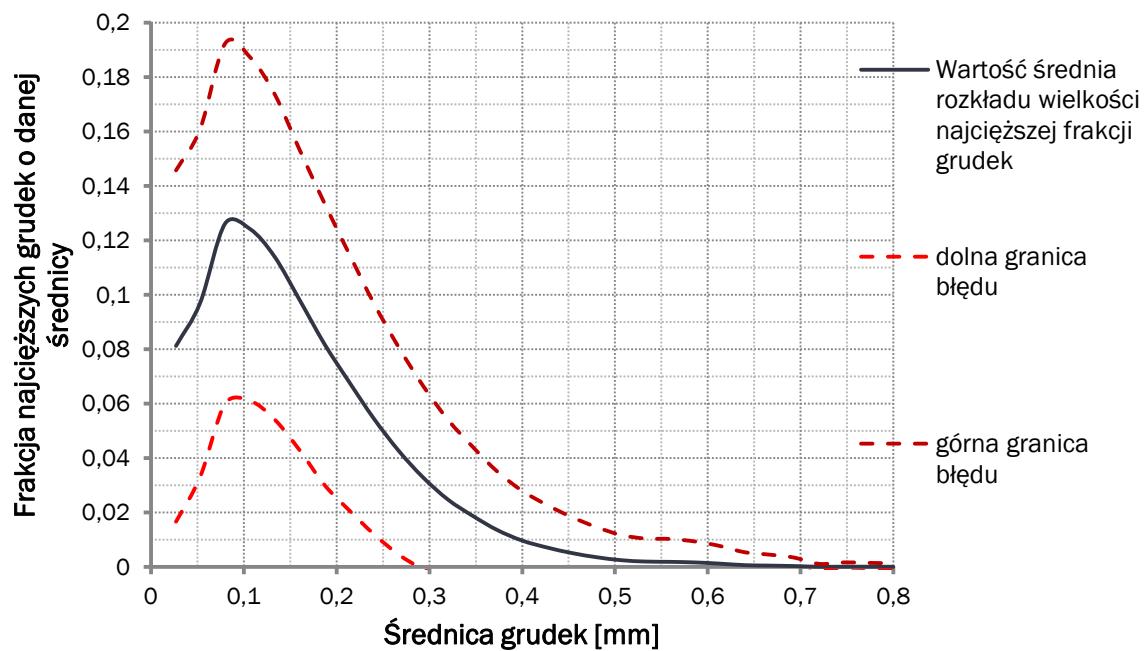
Wykres 3.6. Zawartość procentowa frakcji ciężkiej złogów wapiennych w płatkach zastawek aortalnych

Ciekawą obserwację poczyniono dla obecności frakcji ciężkiej złogów (jasność >190) w ich całkowitej objętości. W najbardziej zwapnionych płatkach obserwowano stosunkowo mało grudek o dużym wysyceniu solami wapnia.



Wykres 3.7. Wykres zbiorczy średniej wartości rozkładu wielkości pojedynczych grudek złogów dla każdej zastawki z serii I-III.

We wszystkich badanych płatkach przeważają grudki o wielkości poniżej 1 mm, których średnica zawiera się głównie w okolicach 0,3-0,4 mm. Skłania to do wysnucia hipotezy, iż kalcyfikacja prowadzi do powstawania wielu drobniejszych ziaren wapiennych rossianych losowo w płatku półksiężycowatym, odseparowanych, nie tworzących jednego, zbitego skupiska.



Wykres 3.8. Wykres zbiorczy średniej wartości rozkładu wielkości pojedynczych grudek złogów o dużej gęstości dla każdej zastawki z serii I-III.

Frakcja ciężka złogów stanowi niewielkie ziarna o średnicy ok. 0,1 mm. Skloniło to do wysnucia hipotezy, iż proces wapnienia rozpoczyna się od tworzenia niewielkich, gęstych skupisk, wokół których stopniowo gromadzą się obszary o mniejszym wysyceniu, bądź też tkanka miękka, początkowo jednolita, na skutek migracji soli wapnia kalcyfikuje, tworząc w swojej objętości gęste, lecz nadal odseparowane od siebie skupiska.

4 ANALIZA JAKOŚCIOWA I ILOŚCIOWA IV SERII ZASTAWEK AORTALNYCH

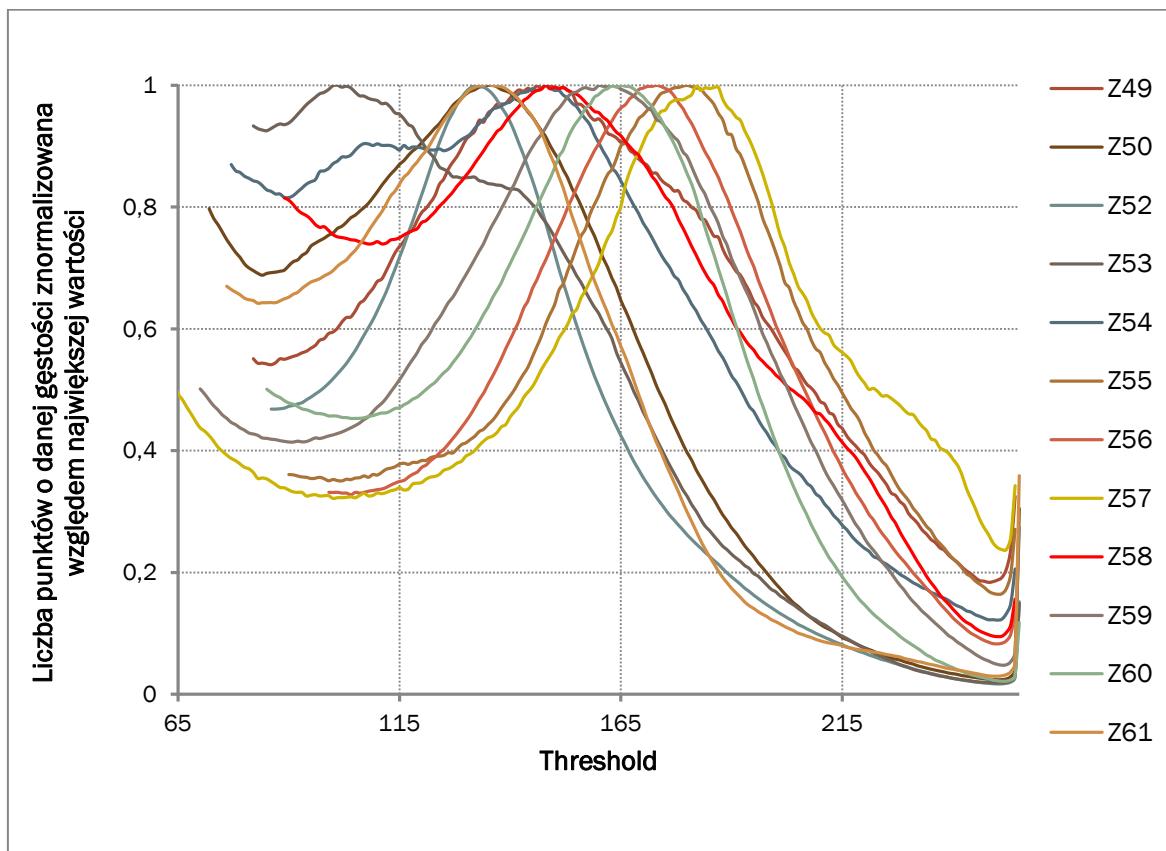
W ramach wcześniejszych badań wykonywanych na potrzeby realizacji pracy inżynierskiej, autorka przeanalizowała 3 serie zastawek, a które składały się 33 pojedyncze płatki półksiężycowate wycięte pacjentom ze Szpitala Jana Pawła II w Krakowie (jedną próbkę wyeliminowano ze względu na słabą jakość obrazu). Pozostałe 11 próbek (IV seria pomiarowa) stała się obiektem badawczym w niniejszej pracy magisterskiej.

4.1 ANALIZA JAKOŚCIOWA

Jakościowej analizy zastawek z IV serii (Z49-Z50, Z52-Z61) dokonano poprzez ręczne wybranie progu na podstawie oceny wizualnej przekrojów zastawek, ich histogramów oraz krzywej progowania. Otrzymano ją na tej samej drodze, co w przypadku pracy inżynierskiej - dla wartości *Threshold* (progu binaryzacji) w zakresie 0-255 liczono objętość obszaru zajmowanego przez obiekt i na podstawie otrzymanych wartości sporządzono wykresy, po jednym dla każdej zastawki. Użyto obrazów, które zostały poddane wstępnej filtracji przy pomocy filtra medianowego (*Median3D*), aby zachować jednolitość z poprzednimi trzema seriemi.

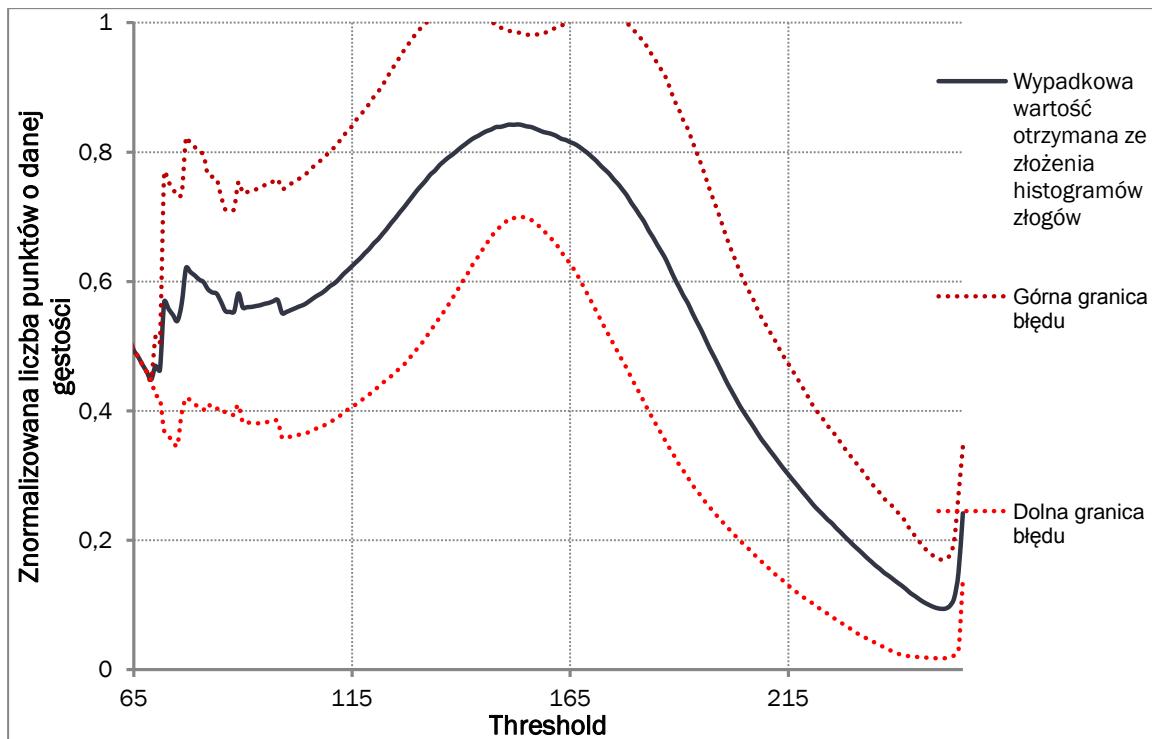
Na podstawie oszacowanych progów oraz histogramów gęstości każdej zastawki wykonano wykresy przedstawiające zależność liczby punktów o danej gęstości znormalizowanej względem największej wartości od obranego progu - oddzielnie dla tkanki miękkiej zastawki oraz zawartych w niej grudek wapniowych. Następnie przedstawiono je na jednym wykresie zbiorczym.

4.1.1 ZŁOGI WAPIENNE



Wykres 4.1. Wykres zbiorczy histogramów złogów dla zastawek z IV serii (Z49, Z50, Z52-Z61)

Na znormalizowanym wykresie zbiorczym wykonanym na podstawie histogramów złogów widać, że zastawki nie posiadają maksimum piku w jednym punkcie. Dla większości z nich znajduje się ono w okolicach 135-185, lecz kształt krzywych jest podobny (posiadają jeden pik). W przypadku zastawki Z53 widać dość wyraźne odstępstwo od reszty. Na krzywej znajdują się bowiem 2 piki, przy czym wyższy z nich posiada maksimum w okolicy 100, a niższy - ok. 140. Jest to podstawa do odrzucenia zastawki przy sporządzaniu wykresu przedstawiającego uśrednioną dla serii IV gęstość złogów w funkcji obranego progu (wyk. 4.2).

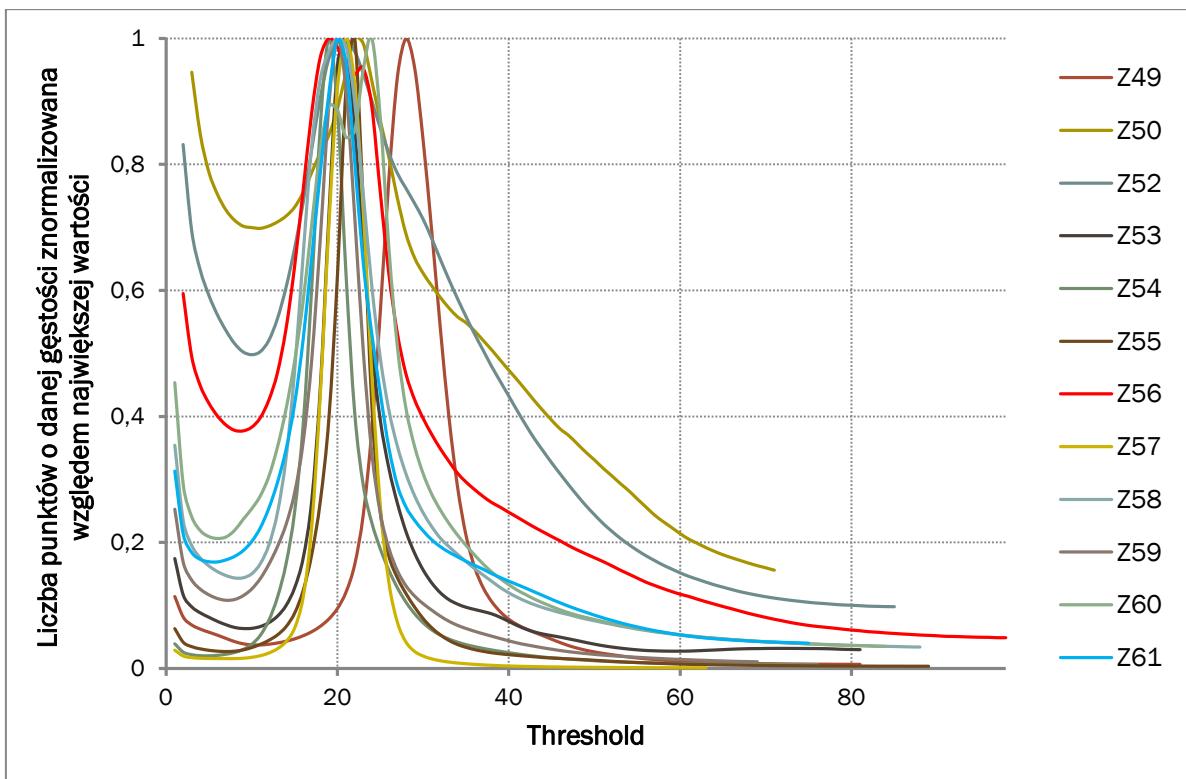


Wykres 4.2. Wykres zbiorczy obrazujący średnią wartość gęstości złogów pochodzącą ze złożenia ich histogramów gęstości (po odrzuceniu zastawki Z53) wraz z zaznaczonym obszarem niepewności (przerwane linie) dla zastawek z IV serii

Na wykresie 4.2 widać jeden, główny pik, który posiada maksimum w okolicy 150, czyli pośrodku przedziału, w jakim znajdowały się maksima dla analizowanych zastawek. Wartość ta jest również zbliżona do wartości uzyskanej dla analizowanych wcześniej próbek z serii I-III (140). Świadczy to o podobieństwie badanych obiektów. Odchylenie standardowe jest dość duże. Mówi to o sporym zróżnicowaniu gęstościowym w obrębie obszaru zajmowanego przez grudki, co potwierdza również wizualna ocena przekrojów. Mimo tego faktu można postulować, iż złogi są zbudowane z identycznego pod względem składu pierwiastkowego materiału, jednakże o różnym stopniu wysycenia solami wapnia widocznego w postaci różnych poziomów szarości na obrazach.

4.1.2 TKANKA MIĘKKA

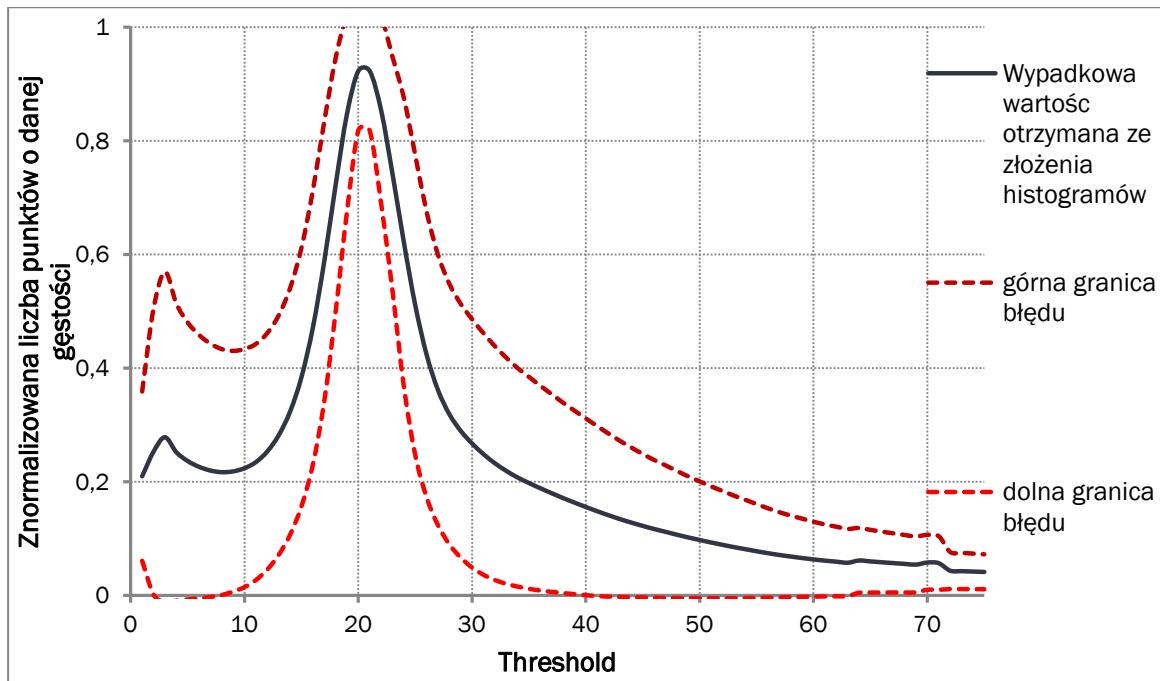
Podobne analizy wykonano dla tkanki miękkiej. W ten sposób zbadano jej jednorodność i podobieństwo do zastawek badanych wcześniej, w ramach pracy inżynierskiej. Zgodnie z przewidywaniami, położenie maksimum krzywych powinno wachać się w granicach 20 - jasności odpowiadającej lekkim pierwiastkom.



Wykres 4.3. Wykres zbiorczy histogramów tkanki miękkiej dla zastawek z IV serii (Z49-Z50, Z52-Z61)

Na wykresie 4.3 widać, że krzywe otrzymane dla zastawek z IV serii mają podobny kształt - posiadają jeden, dość wąski pik z maksimum w granicach 15-25. Już na tym etapie widać, że zróżnicowanie w obrębie tkanki miękkiej jest znacznie mniejsze, niż w przypadku grudek wapiennych. Jedna zastawka, Z49, nieco odbiega od reszty, gdyż maksimum piku dla odpowiadającej jej krzywej osiąga nieznacznie większą wartość, ok. 28. Dodatkowo 2 krzywe różnią się kształtem od pozostałych. Posiadają bowiem 2 piki, które nie są od siebie całkowicie odseparowane, lecz warunkują pojawienie się 2 maksimów dla jednego badanego obiektu. Są to Z56 oraz Z60. Obie znajdują się jednak w obszarze zawierającym pozostałe maksima, więc ich eliminacja z dalszych

rozoważań nie wydaje się być konieczna. Odrzucono jedynie zastawkę Z49. Następnie przystąpiono do sporządzenia uśrednionego wykresu zbiorczego wraz z zaznaczonym obszarem niepewności (wyk. 4.4).



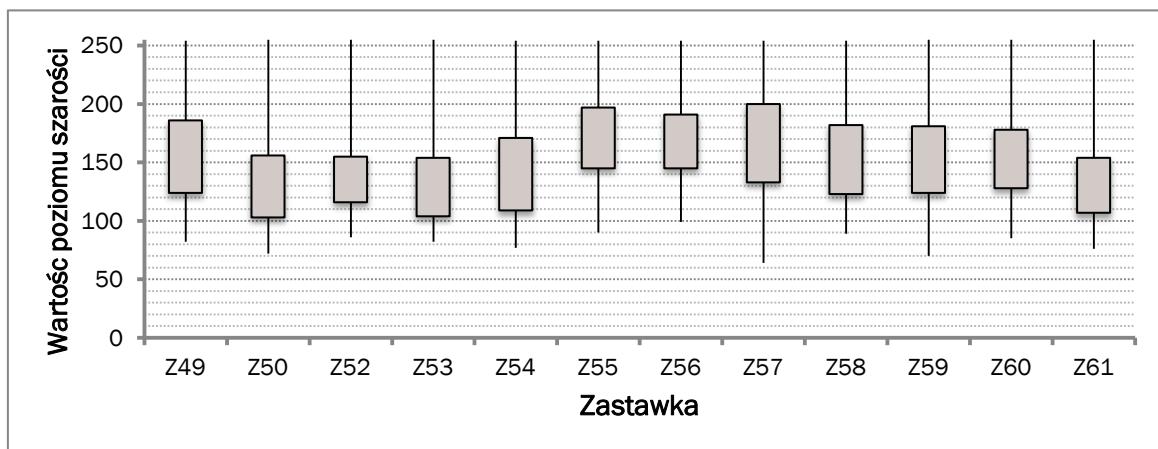
Wykres 4.4. Wykres zbiorczy obrazujący średnią wartość gęstości tkanki miękkiej pochodzączą ze złożenia ich histogramów gęstości (po odrzuceniu zastawki Z53) wraz z zaznaczonym obszarem niepewności (przerywane linie) dla zastawek z IV serii

Na podstawie wykresu 4.4 można stwierdzić, że zróżnicowanie gęstości w obrębie tkanki miękkiej jest mniejsze w obrębie maksimum, znajdującego się w granicach 20. Podobne wyniki otrzymano podczas analizy jakościowej zastawek z poprzednich serii. Kolejnym spostrzeżeniem jest to, że odchylenia od średniej wartości są większe w obszarze wartości znajdującym się poza pikiem. Mimo to z powodzeniem można stwierdzić, że tkanka miękka jest jednorodna pod względem gęstości, co jest zgodne z wcześniejszymi obserwacjami.

4.2 ANALIZA STATYSTYCZNA HISTOGRAMÓW GĘSTOŚCI DLA TKANKI MIĘKKIEJ ZASTAWKI I ZŁOGÓW WAPIENNYCH

Kolejnym etapem analizy była, podobnie jak w pracy inżynierskiej, analiza statystyczna histogramów gęstości tkanki miękkiej oraz złogów, oparta na metodzie kwartylnej. Na podstawie sumy liczby zliczeń punktów o danej gęstości każdej zastawki wyznaczono dolne i górne kwartyle (I i III) oraz wartość maksymalną i minimalną. Na tej podstawie sporządzono wykres pudełkowy (wyk. 4.5), dzięki któremu możliwa była późniejsza ocena zróżnicowania gęstości w obrębie interesujących obszarów oraz rozpiętości poziomów szarości, które ją charakteryzowały.

4.2.1 ZŁOGI WAPIENNE



Wykres 4.5. Analiza statystyczna złogów wapiennych dla zastawek z IV serii

Na wykresie 4.5 widać, że pik charakteryzuje podobny zakres szarości. Da się jednak zauważać istniejące między nimi różnice, objawiające się w położeniu dolnej granicy (minimum) oraz wartości maksymalnej obu kwartyli. Wynika to z różnych progów separacji złogów na binarnych obrazach, dobranych indywidualnie dla każdej zastawki. Podczas wstępnych, poglądowych obserwacji można zauważać, że rozstęp kwartylny jest bardzo podobny dla każdej próbki. Świadczyły to o małym zróżnicowaniu zastawek w obrębie badanej serii.

Obliczono również współczynnik korelacji liniowej Pearsona (r) między zawartością procentową złogów w zastawkach a rozstępem kwartylnym je charakteryzującym. Wynosił on -0.79, co świadczy o antykorelacji - im więcej grudek w obrębie płatka, tym ich zróżnicowanie pod względem gęstości jest mniejsze.

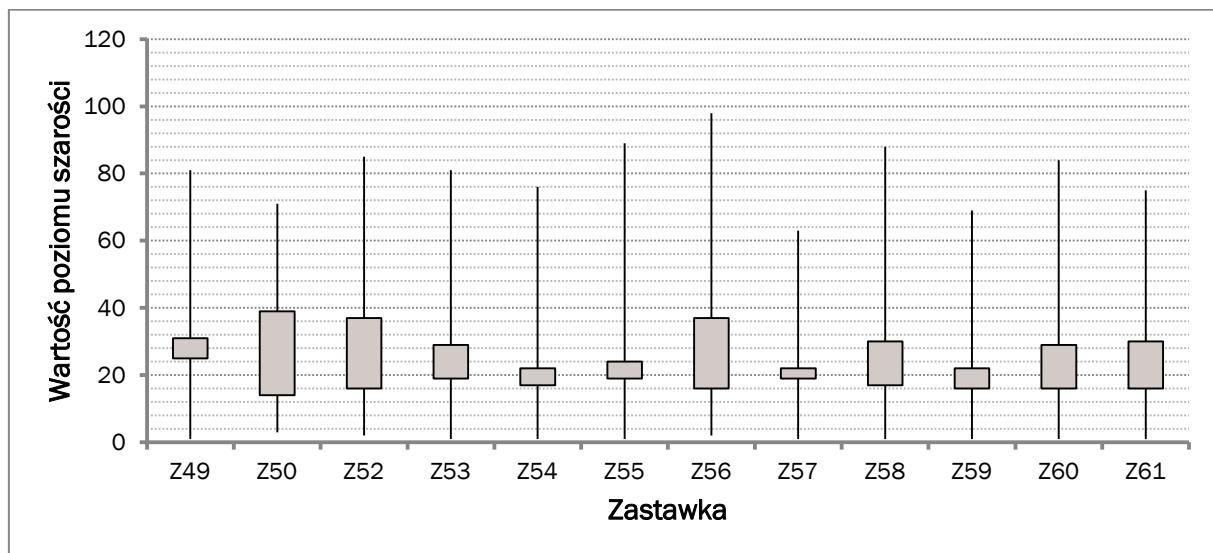
Szczegółowe dane liczbowe przedstawiono w tabeli 4.1.

Tabela 4.1. Parametry statystyczne wyznaczone dla złogów na podstawie liczby punktów o danej gęstości dla poszczególnych wartości poziomów szarości dla zastawek z IV serii pomiarowej

Zastawka	Dolny kwartył	Maksymalna wartość prog u z histogramu	Minimalna wartość prog u z histogramu	Górny kwartył	Median a	Maksimum pik u	Rozstęp kwartylny
Z49	124	254	82	186	153	148	62
Z50	103	255	72	156	130	135	53
Z52	116	255	86	155	135	132	39
Z53	104	255	82	154	127	101	50
Z54	109	254	77	171	140	148	62
Z55	145	254	90	197	173	180	52
Z56	145	254	99	191	169	173	46
Z57	133	254	64	200	173	182	67
Z58	123	254	89	182	152	148	59
Z59	124	255	70	181	154	160	57
Z60	128	255	85	178	157	165	50
Z61	107	255	76	154	131	133	47

4.2.2 TKANKA MIĘKKA

Podobne analizy przeprowadzono dla tkanki miękkiej.



Wykres 4.6. Analiza statystyczna tkanki miękkiej dla zastawek z IV serii

W tym przypadku można zauważać znacznie większe zróżnicowanie. Świadczą o tym wartości dolnego i górnego kwartyla, których różnica stanowi tzw. rozstęp kwartylny. Jest on największy dla zastawek Z50, Z52 oraz Z56, które zawierały najwięcej złogów. Najmniej zróżnicowane zdają się być zastawki Z54, Z55 oraz Z57, które nie były bogate w grudki odkładającego się wapnia. Współczynnik korelacji między zawartością procentową złogów w zastawce a rozstępem kwartylnym charakteryzującym tkankę miękką wynosił 0.98. Świadczy to o bardzo dużej zależności między tymi parametrami - im więcej złogów, tym bardziej zróżnicowana jest tkanka miękka płatka. Potwierdziła się również hipoteza postawiona w pracy inżynierskiej - szerokim pikom złogów towarzyszą wąskie piki tkanki miękkiej (współczynnik korelacji Pearsona $r = -0.7$). Szczegółowe dane liczbowe zostały przedstawione w tabeli 4.2.

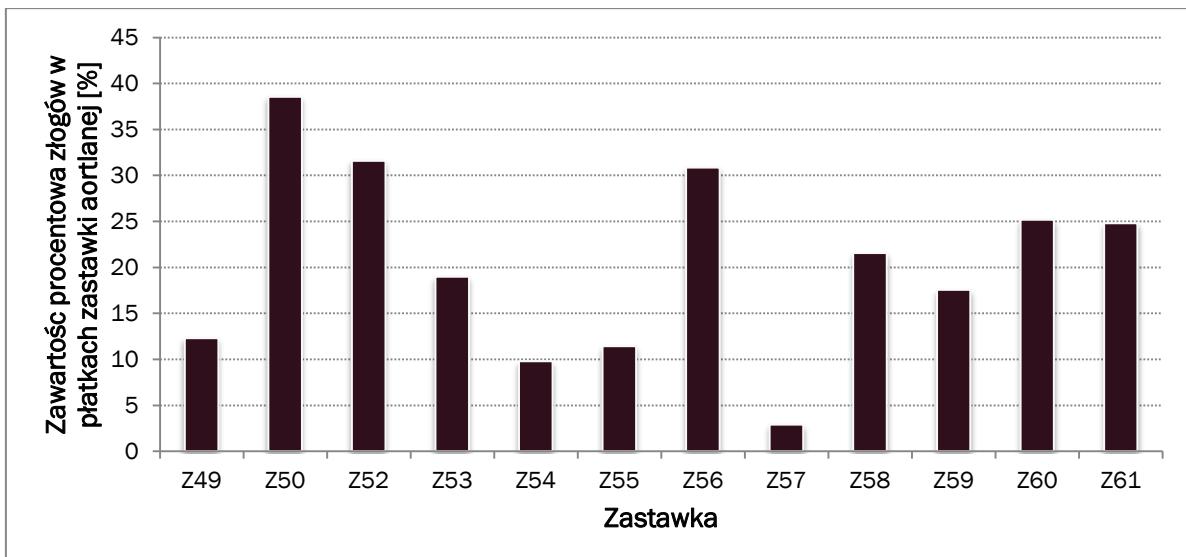
Tabela 4.2. Parametry statystyczne wyznaczone dla tkanki miękkiej na podstawie liczby punktów o danej gęstości dla poszczególnych wartości poziomów szarości dla zastawek z IV serii pomiarowej

Zastawka	Dolny kwartył	Maksymalna wartość progu z histogramu	Minimalna wartość progu z histogramu	Górny kwartył	Mediana	Maksimum piku	Różstęp kwartylny
Z49	25	81	1	31	28	28	6
Z50	14	71	3	39	24	22	25
Z52	16	85	2	37	25	21	21
Z53	19	81	1	29	22	21	10
Z54	17	76	1	22	19	19	5
Z55	19	89	1	24	21	22	5
Z56	16	98	2	37	23	19	21
Z57	19	63	1	22	21	21	3
Z58	17	88	1	30	21	20	13
Z59	16	69	1	22	20	20	8
Z60	16	84	1	29	22	24	13
Z61	16	75	1	30	21	20	14

4.3 ANALIZA ILOŚCIOWA

Podczas analizy ilościowej skupiono się na oszacowaniu zawartości procentowej złogów w tkance miękkiej, ich wielkości, zajmowanej powierzchni, stopnia pofałdowania oraz średniej wielkości grudek. Zbadano również pod tym kątem najczęszą frakcję złogów (próg 190).

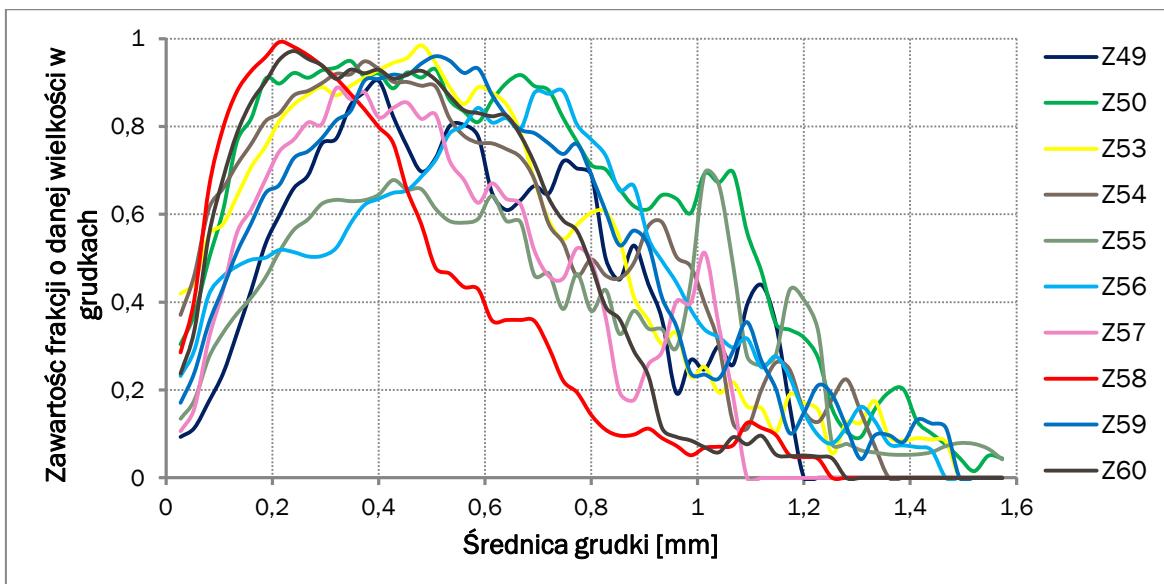
Badane zastawki miały bardzo różną wielkość: od ok. 300 mm^3 (Z49) do ponad 4000 mm^3 (Z61). Małe płatki posiadały większy stopień pofałdowania, niż duże, lecz poza tym nie wykazywały znaczących różnic w wartościach pozostałych parametrów.



Wykres 4.7. Zawartość procentowa złogów w płatkach zastawek aortalnych z IV serii

Zawartość procentowa złogów w zastawkach aortalnych waha się w granicach ok. 2.5-38%. Większość badanych płatków cechuje się zwartnieniem na poziomie ok. 10-25%.

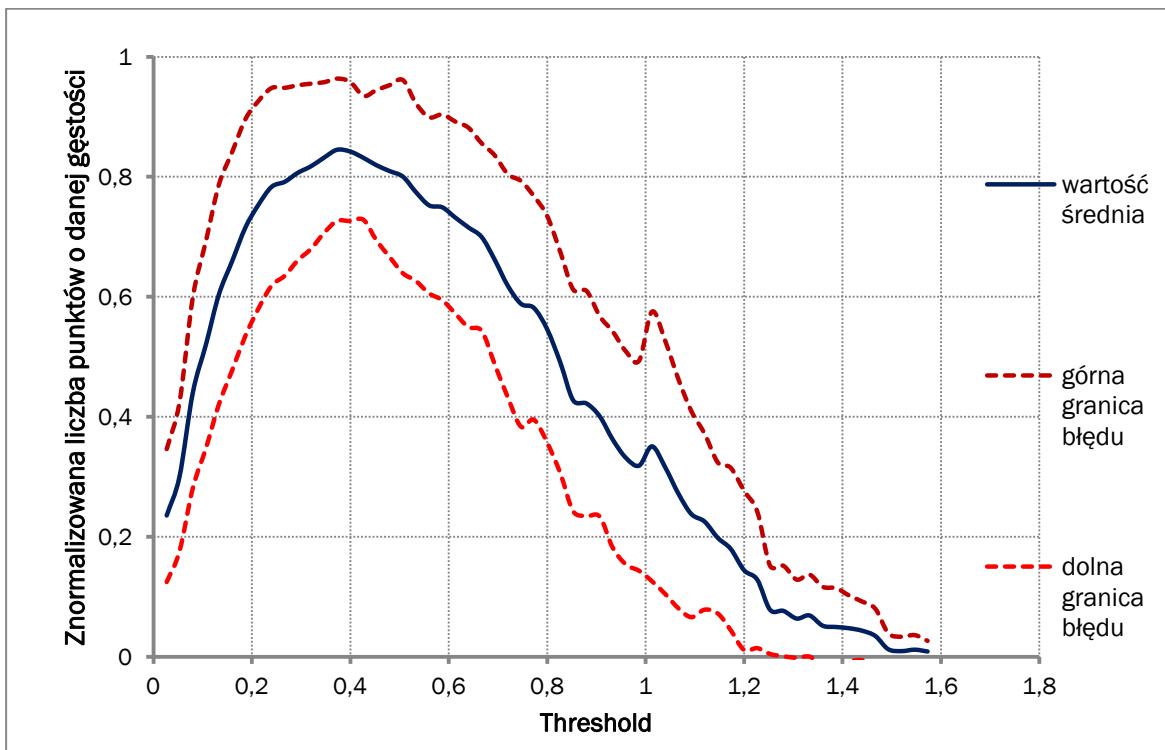
Kolejnym analizowanym parametrem był średni rozmiar pojedynczej grudki znajdującej się w płatku półksiężycowatym danej zastawki aortalnej. Poniżej znajduje się wykres zbiorczy przedstawiający rozkład wielkości złogów.



Wykres 4.8. Rozkład wielkości grudek dla zastawek z IV serii

Na wykresie 4.8 widać, że większość grudek osiąga rozmiar średnicy ok. 0.2 - 0.4 mm. Ich rozkład wielkościowy przedstawia się z grubsza tak samo. Dla zastawek Z49, Z50, Z54 i Z55 można dodatkowo zauważać obecność złogów osiągających ok. 1 - 1.2 mm średnicy.

Aby wprowadzić większą przejrzystość, sporządzono wykres przedstawiający wartość średnią rozmiaru grudek wraz z odchyleniem standardowym reprezentowanym przez dolną i górną granicę błędu (wyk. 4.9).

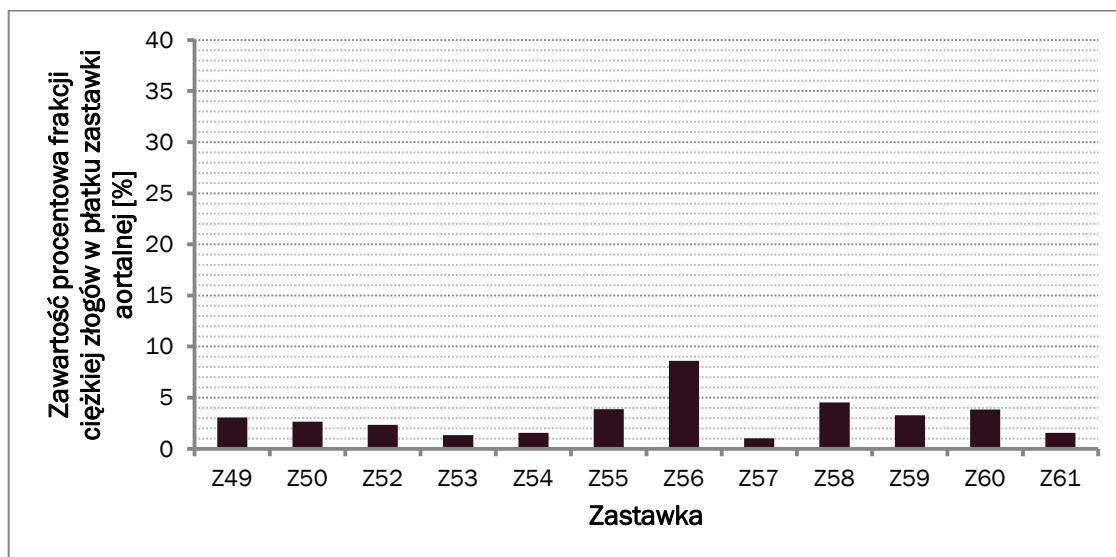


Wykres 4.9. Uśredniony rozkład wielkości grudek dla zastawek z IV serii pomiarowej

Jak widać, potwierdza on wcześniejsze obserwacje - w zastawkach najczęściej jest grudek o średnicy ok. 0.4 mm. Zgadza się to również z wynikami otrzymanymi w przypadku innych serii pomiarowych.

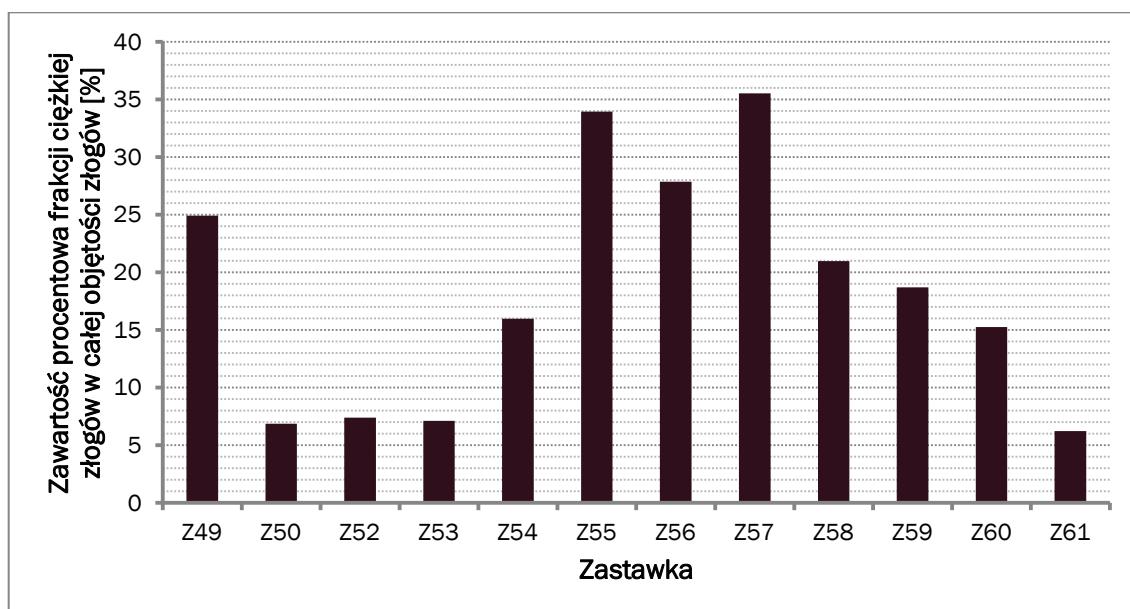
4.3.1 ANALIZA FRAKCJI CIĘŻKIEJ ZAWARTEJ W ZŁOGACH

Na koniec przeprowadzono analizę frakcji ciężkiej zawartej w złogach (o jasności powyżej 190). Wyznaczono jej objętość, stopień pofałdowania, powierzchnię, średni rozmiar ziarna oraz udział procentowy w grudkach, a także w całej zastawce.



Wykres 4.10. Zawartość procentowa frakcji ciężkiej złogów w zastawce (IV seria pomiarowa)

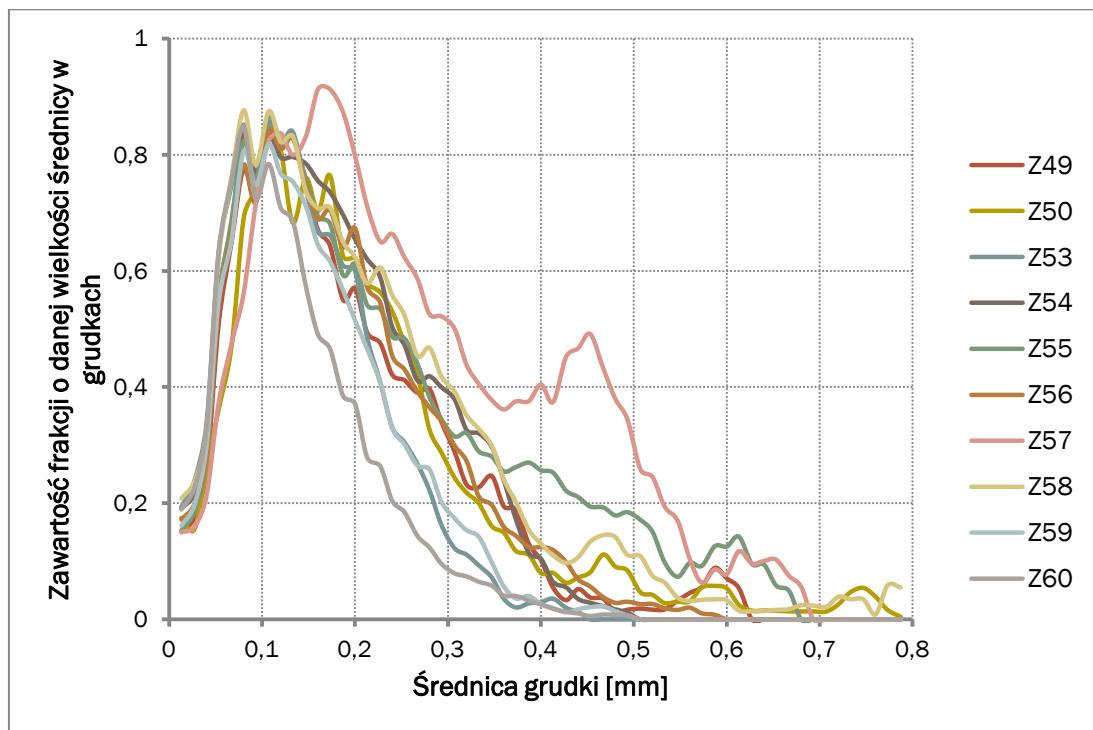
W większości zastawek zawartość frakcji ciężkiej złogów sięga ok. 3-4%. Wyjątkiem jest zastawka Z56 - tutaj jest ich aż 8.59%.



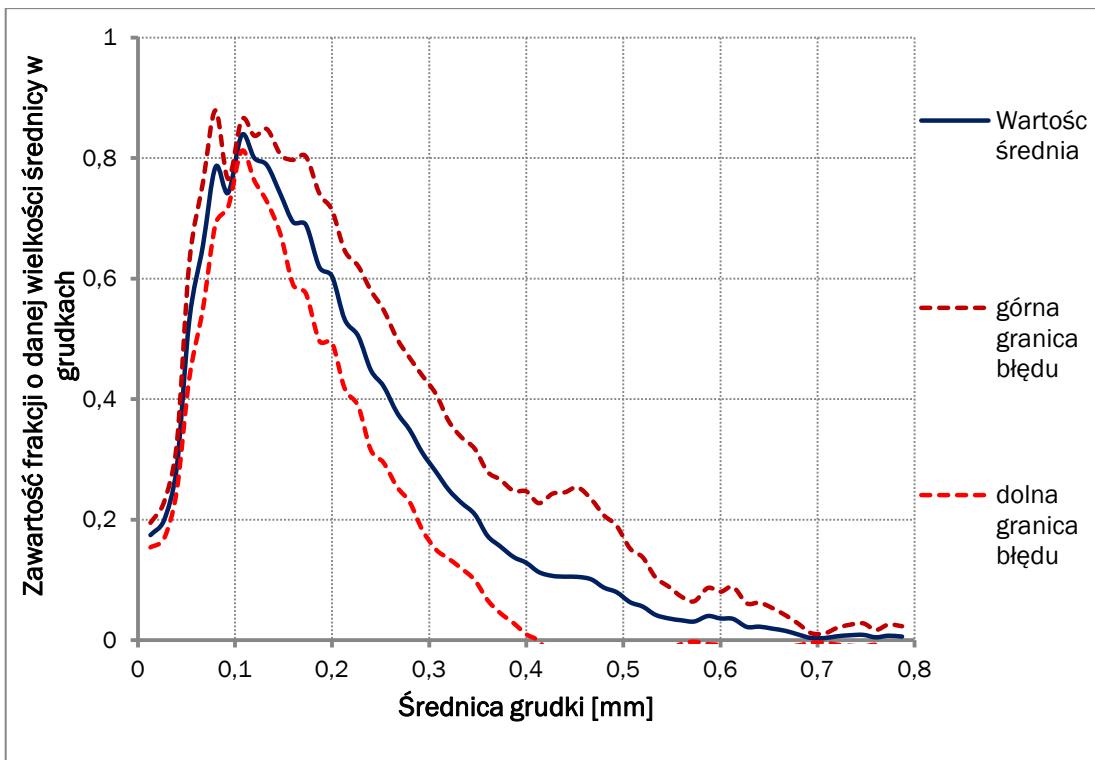
Wykres 4.11. Zawartość procentowa frakcji ciężkiej złogów w ich całej objętości (IV seria pomiarowa)

W złogach zawartość procentowa frakcji ciężkiej kształtuje się trochę inaczej, niż w całej zastawce. Grudki o największej gęstości zajmują tu przeważnie ok. 20% objętości pojedynczego płatka.

Sporządzono również wykres zbiorczy przedstawiający rozkład wielkości średnicy największych grudek (wyk. 4.12). Niestety, nie jest on łatwy w interpretacji, ponieważ poszczególne linie nakładają się na siebie, utrudniając znacznie śledzenie ich przebiegu. W związku z tym podjęto próbę jego uproszczenia poprzez uśrednienie wyników dla wszystkich próbek oraz wyliczenie zakresu błędu obliczonych w ten sposób wartości. Przedstawiono na niej średnią zawartość grudek o danej średnicy dla wszystkich zastawek oraz zakres błędu (wykres 4.13).



Wykres 4.12. Zbiorczy wykres rozkładu wielkości grudek dla zastawek z IV serii



Wykres 4.13. Wykres średniej wartości rozkładu wielkości frakcji ciężkiej grudek dla zastawek z IV serii

Jak widać na obu wykresach, większość ciężkich grudek osiąga średnicę ok. 1 mm. Świadczy o tym również mały zakres błędu. Największe różnice widać w przypadku złogów o średnicy ok. 0,4-0,5 mm. Tam zawartość badanej frakcji w poszczególnych zastawkach nie jest już tak jednorodna, jak w przypadku mniejszych złogów.

5 ANALIZA JAKOŚCIOWA ZŁOGÓW WAPIENNÝCH - NOWE PODEJŚCIE

W ramach wcześniejszych badań mikrotomograficznych zastawek aortalnych skupiono się na jakościowym oszacowaniu gęstości zwapnień oraz ilościowym określeniu ich parametrów: objętości, stopnia pofałdowania, powierzchni, średniego rozmiaru grudki, czy też zawartości procentowej w płatku. Parametry te z pewnością dają bardzo istotne informacje, jednak nie poprzestano wyłącznie na nich. W toku dalszych rozważań poszukiwano nowych sposobów na wyciągnięcie większej ilości danych o złogach wapiennych z posiadanych obrazów struktury trójwymiarowej płatków półksiężycowatych.

Ostatecznie, po wielu próbach, udało się opracować autorskie algorytmy, dzięki którym możliwe jest przeanalizowanie struktury i kształtu złogów oraz rozkładu gęstości w obrębie grudek, gdyż jak zauważono już wcześniej - nie jest ona jednolita, bowiem w obszarze zwapnień widać fragmenty o różnym poziomie jasności, świadczące o różnym wysyceniu solami wapnia.

5.1 ANALIZA STRUKTURY GĘSTOŚCI GRUDEK

5.1.1 OPIS MAKRA DENSITY3D.IJM

Makro *Density3d.ijm* ma na celu zbadanie otoczenia losowego punktu znajdującego się w obrębie zastawki pod kątem jego gęstości w obrębie pojedynczego przekroju. W tym celu losowane są punkty o jasności nie mniejszej niż 70 (10 000 iteracji), a następnie, dla każdego z nich, analizowani są "sąsiedzi" znajdujący się na okręgu o zadanym przez Użytkownika promieniu r (domyślana wartość to 1 mm).

Promień każdorazowo przesuwany jest o 5° , a jego koniec wskazuje na punkt należący do otoczenia wylosowanego wcześniej punktu centralnego. W ten sposób zbierane są dane z obszaru kuli otaczającej interesujący piksel.

Wyniki zapisywane są do tabeli "Results". Poszczególne wiersze to wartości wylosowanych pikseli (punktów centralnych), natomiast kolumny - wartości pikseli z otoczenia. W odpowiednich komórkach znajdują się liczby zliczeń "sąsiadów" znajdujących się wokół wybranego piksela o jasności x.

Poniżej zaprezentowano skrócony algorytm postępowania, jaki stosowano do wyznaczania rozkładu gęstości w obrębie złogów. Jego szczegółowa reprezentacja znajduje się w dodatku C.

Algorytm

1. Wybór wartości promienia (domyślnie 1 mm).
2. Ustawienie wartości kąta obrotu na 5° .
3. Wylosowanie punktu centralnego.
4. Sprawdzenie wartości punktu centralnego; jeśli jest mniejsza, niż 70 - powtórzenie punktu 3.
5. Określenie współrzędnych biegunowych poszczególnych punktów otoczenia (zgodnie z obranym promieniem i kątem) .
6. Odczytanie jasności punktów z otoczenia.
7. Dodanie wartości do odpowiedniej komórki tabeli.

Do napisania makra wykorzystano język stworzony na potrzeby programu *ImageJ*, który jest bardzo intuicyjny i doskonały do tworzenia praktycznych, małych programów automatyzujących wykonywanie wielu poleceń [26]. Dzięki temu użytkownik nie musi spędzić wielu godzin przed komputerem, klikając na kolejne opcje, aby uzyskać pożądane wyniki analiz.

5.1.2 WYNIKI ANALIZY STRUKTURY GĘSTOŚCI GRUDEK W 3D DLA 4 WYBRANYCH ZASTAWEK: Z12, Z17, Z18 I Z39

Strukturę gęstości zastawek w obrębie zadanego przez użytkownika promienia zbadało przy pomocy napisanego wcześniej makra - *Density3D.ijm*. Analizie poddano 4 wybrane zastawki o dużej zawartości procentowej złogów:

- Z12
- Z17
- Z18
- Z39

Dla każdej z nich przeanalizowano otoczenie wokół wylosowanego punktu centralnego, korzystając z następujących wartości promienia (r):

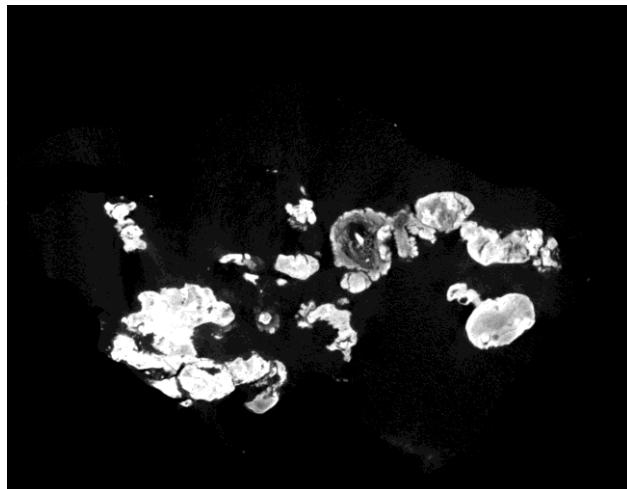
- 0.01 mm
- 0.03 mm
- 0.05 mm
- 0.1 mm
- 0.3 mm
- 0.5 mm
- 1 mm

Otrzymane w postaci liczbowej dane pomiarowe przedstawiono za pomocą map cieplnych wykonanych w programie *Gnuplot*, z wykorzystaniem napisanego własnoręcznie skryptu generującego wynikowe obrazy w formacie *.png*. Przedstawiają one w sposób graficzny rozmieszczenie punktów o danej gęstości wokół określonego, wylosowanego punktu centralnego. Dzięki nim można zaobserwować, czy gęstość grudek jest jednorodna, czy może istnieje jakaś tendencja według której są wokół siebie skupiane. Wszystkie mapy cieplne umieszczone w dodatku B.

Średni rozmiar grudki wyliczony dla każdej zastawki znajdował się w zakresie od 0.42 mm dla Z39 do 0.48 dla Z18. Jest to wartość średnicy, stąd też najlepszych wyników pomiarowych można spodziewać się dla promienia wynoszącego mniej, niż 0.2 mm. Wtedy można mieć bowiem dość dużą pewność, iż program wylosuje punkty, które rzeczywiście znajdują się w obrębie danej grudki.

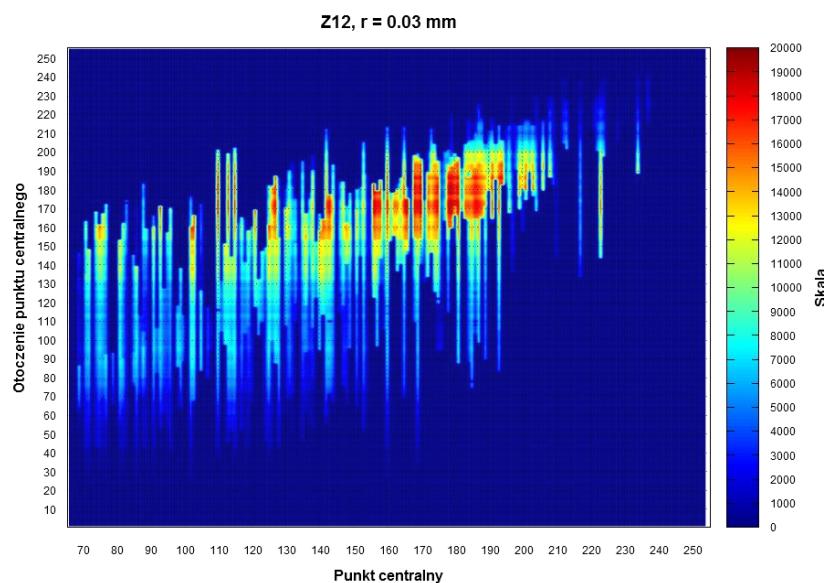
5.1.2.1 ZASTAWKA Z12

Pierwszą analizowaną próbką była zastawka Z12, której pojedynczy przekrój przedstawiono na rys. 5.1.



Rysunek 5.1. Pojedynczy przekrój przez zastawkę Z12

Mapy cieplne otrzymane na podstawie danych zebranych dla poszczególnych wartości promienia: 0.01 mm, 0.03 mm, 0.05 mm, 0.1 mm, 0.3 mm, 0.5 mm oraz 1 mm zebrano w dodatku B.

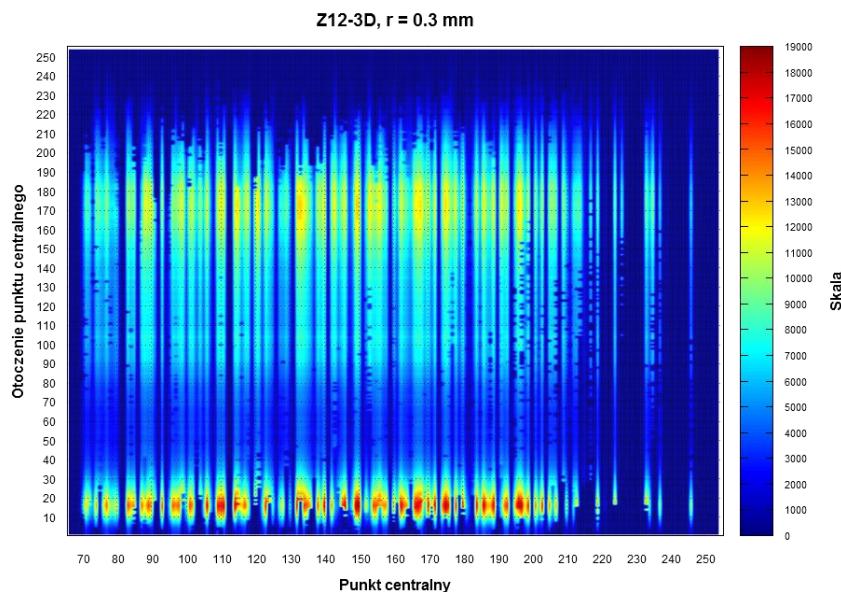


Wykres 5.1. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.03 mm dla zastawki Z12

Przykładowo, dla promienia 0.03 mm można zaobserwować dużą jednorodność gęstości, dominującą duże wartości pikseli (zaznaczone na pomarańczowo i czerwono (rys. 5.1). Widać jednak, że w przypadku punktu centralnego, którego jasność znajdowała się w granicach 70-140 stosunkowo dużo punktów z otoczenia osiąga wartości większe, znajdujące się w granicach 150-200. Być może na zewnątrz grudek znajduje się otoczka o dużej gęstości lub promień trafił na obszar sąsiedniej grudki. Dla mniejszej wartości promienia (0.01 mm) sytuacja wygląda trochę inaczej. Przeważają punkty o jasności w okolicach 180-200 znajdujące się wokół punktu centralnego o zbliżonej jasności. Może to świadczyć o tym, że złogi są dość jednolite pod względem gęstości w tak małym obszarze.

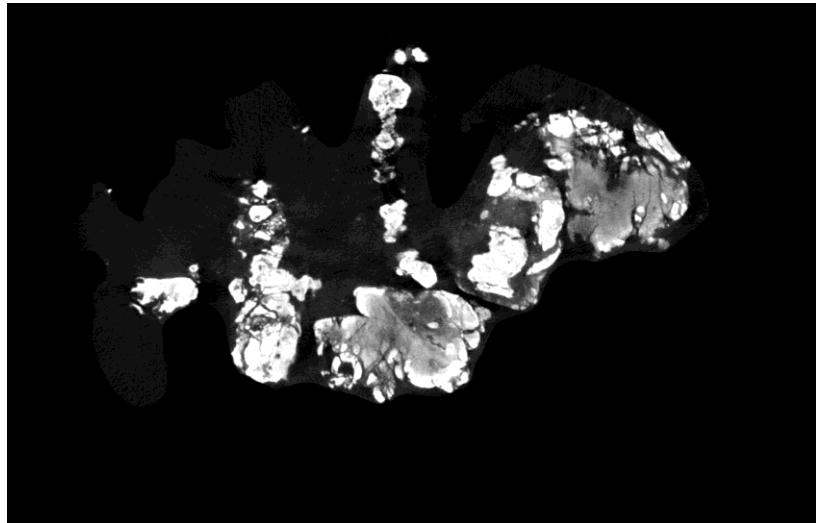
Dla większych wartości promienia, począwszy od 0.3 mm widać, że rośnie udział punktów o jasności odpowiadającej tkance miękkiej. Na tej podstawie można wnioskować, że promień wykraczał poza obszar grudki.

W przypadku $r = 0.3 \text{ mm}$ (rys.5.2) można zaobserwować, że wokół punktów centralnych z całego zakresu jasności gromadzą się punkty otoczenia o jasności z zakresu 160-190. Na tej podstawie można powiedzieć, że w zastawce dominują złogi o tej właśnie jasności.



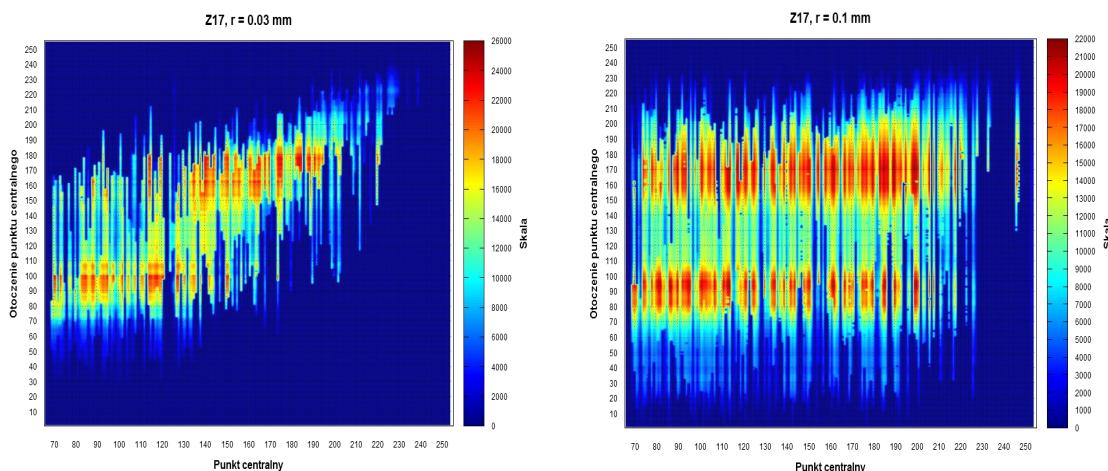
Wykres 5.2. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.3 mm dla zastawki Z12

5.1.2.2 ZASTAWKA Z17



Rysunek 5.2. Pojedynczy przekrój przez zastawkę Z17

Na pierwszy rzut oka można zauważyc, że zastawka Z17 posiada stosunkowo duże grudki o zróżnicowanej gęstości. Można się zatem spodziewać, że mapy cieplne (dodatek C) ukażą kilka obszarów skupień wokół punktu centralnego o określonej gęstości, co potwierdziłoby tę hipotezę.



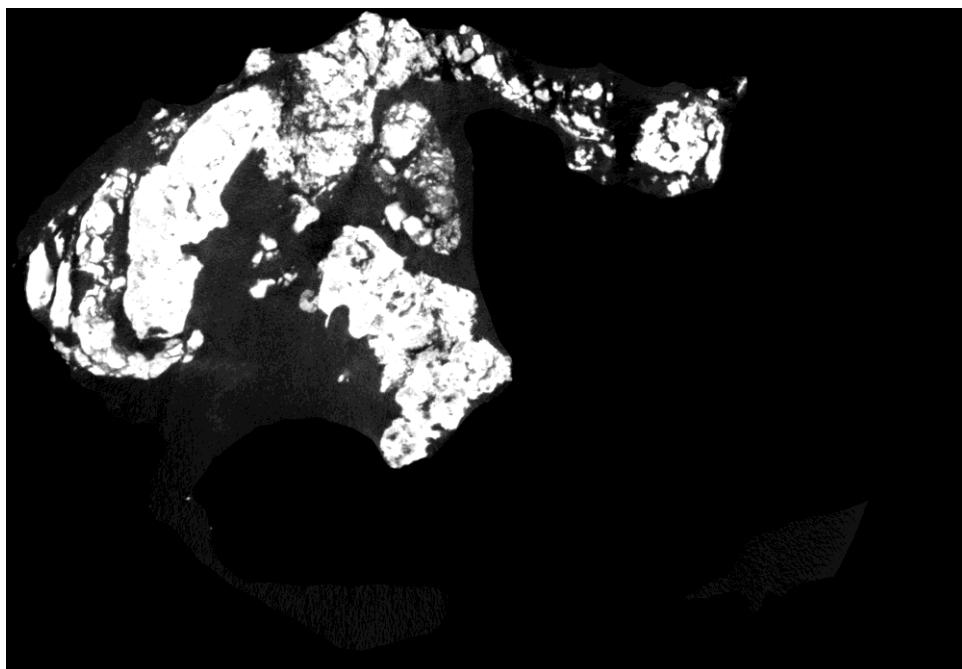
Rysunek 5.3. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.03 mm (po lewej) i 0.1 mm (po prawej) dla zastawki Z17

Analiza otoczenia punktu centralnego w 3D pokazała, że najwięcej punktów posiada dość niską gęstość, z zakresu 80-100, z tendencją do gromadzenia się wokół niego pikseli o podobnej jasności. Być może grudki są w tej zastawce słabo wysycone solami wapnia i bardziej zróżnicowane, niż w zastawce Z12. Potwierdza to obserwacja dla promienia o wartości 0.03 mm, gdzie widać wyraźnie dwa dominujące zakresy jasności: 80-110 oraz 140-190, które nakładają się dla punktu centralnego o jasności ok. 120. Świadczy to o zróżnicowaniu gęstości w obrębie pojedynczej grudki.

Dla promienia $r = 0.1$ mm widać już wyraźnie dominację dwóch zakresów jasności. Potwierdza to wcześniejszą hipotezę o występowaniu w tej zastawce złogów o zróżnicowanej strukturze wynikającej z różnego stopnia wysycenia solami wapnia. Wraz z oddalaniem się od wylosowanego centrum złogu (wyk. 10.12-10.14) obserwuje się również wzrost udziału punktów o jasności odpowiadającej tkance miękkiej. Sugeruje to, iż promień jest za duży i wykracza poza obszar grudki.

5.1.2.3 ZASTAWKA Z18

Kolejną analizowaną próbką była zastawka oznaczona jako Z18 (rys. 5.4).

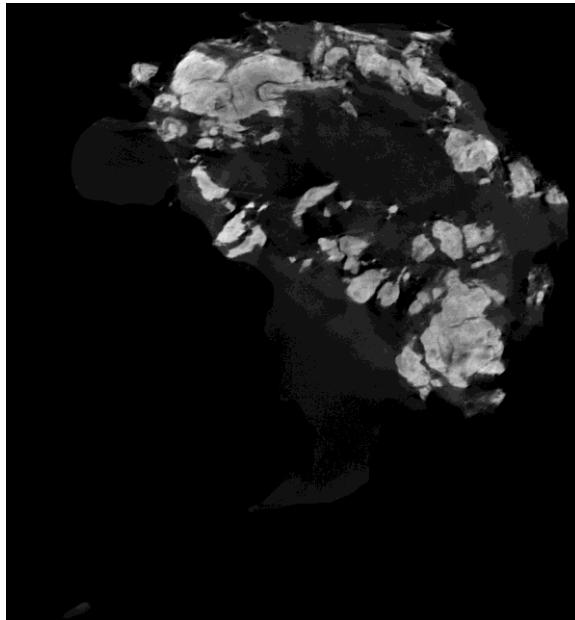


Rysunek 5.4. Pojedynczy przekrój przez zastawę Z18

Analizowana projekcja przedstawia kilka dość dużych złogów oraz skupiska małych grudek. Dla tej zastawki wyliczony średni rozmiar pojedynczej grudki wynosił 0.48 mm, stąd też najciekawszych obserwacji można się spodziewać dla promienia o wartości 0.1 mm, gdyż istnieje duże prawdopodobieństwo, iż obejmie on obszar pojedynczego złogu, dając cenne informacje o rozkładzie gęstości.

Dla najbliższego otoczenia wylosowanego piksela ($r = 0.01$ mm, wyk. 10.15, dodatek C) można zauważyc dużą jednorodność grudek, których jasność mieści się w zakresie 180-200. Świadczy to o dość znacznym wysyceniu solami wapnia, co potwierdza również pobieżna analiza pojedynczego przekroju przez zastawkę wykonana techniką mikrotomografii komputerowej oraz wykresów sporządzonych dla danych otrzymanych dla większych wartości promienia. Dopiero w odległości ok. 0.3 mm od centrum wylosowanego z obszaru złogu punktu zaczynają być rejestrowane piksele należące do tkanki miękkiej. Wynika to z rozmiaru grudki (średnio 0.48 mm).

5.1.2.4 ZASTAWKA Z39

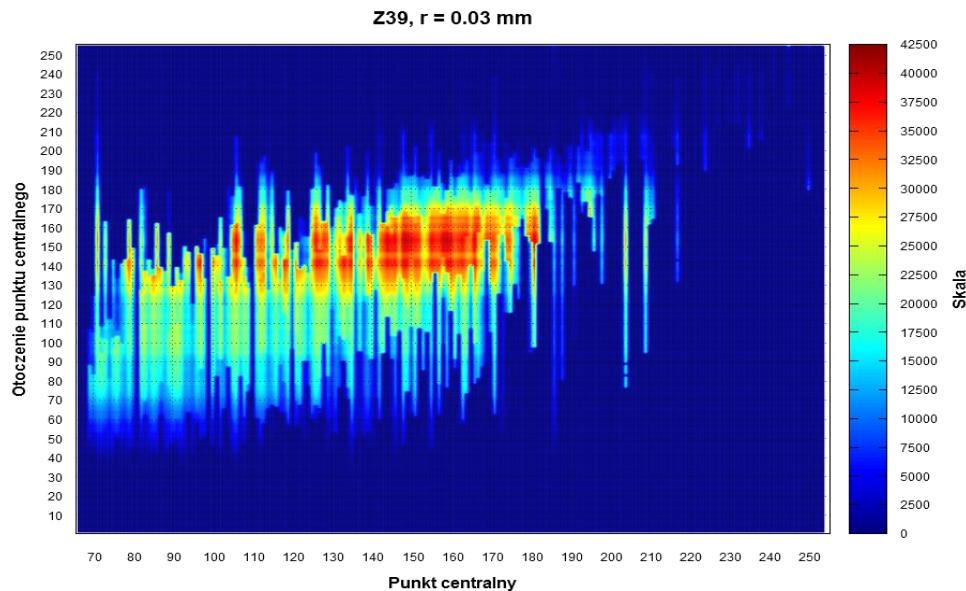


Ostatnią analizowaną przy wykorzystaniu autorskiego algorytmu zastawką była Z39 z II serii pomiarowej. Już na podstawie pobieżnej oceny wizualnej przekroju widać, że posiada ona grudki rozsiane po niemal całej objętości płatka. Ich średni rozmiar wynosił 0.42 mm, gęstość wydaje się być mało zróżnicowana, stąd można przewidywać, że wykresy przedstawią niemal liniową zależność gęstości punktu centralnego od gęstości jego otoczenia.

Rysunek 5.5. Pojedynczy przekrój przez zastawkę Z39

Analiza map cieplnych sporządzonych da wartości pikseli zebranych z najbliższego otoczenia wylosowanego piksela (wyk. 10.22 i 10.23, dodatek C) pokazuje, że jest ono

jednorodne (wokół punktu centralnego o danej gęstości gromadzą się punkty o bardzo zbliżonej jasności), przeważa zdecydowanie gęstość z zakresu 140-170, podobnie jak dla Z12. Widać to dobrze na wykresie 5.3, gdzie w interesującym obszarze dominują odcienie pomarańczowego i czerwieni, świadczące o największej liczbie zliczeń.



Wykres 5.3. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.03 mm dla zastawki Z39

5.1.3 PODSUMOWANIE ANALIZY JAKOŚCIOWEJ STRUKTURY GĘSTOŚCI GRUDEK W 3D DLA 4 ZASTAWEK: Z12, Z17, Z18 I Z39

Analiza jakościowa za pomocą autorskiego algorytmu pozwoliła oszacować rozkład gęstości w obrębie grudek. Okazuje się, że jest on różny dla każdej zastawki, co zapewne wynika z odmiennego przebiegu procesu kalcyfikacji u pacjentów. Mimo tego można znaleźć kilka podobieństw. Obserwacja sporządzonych map cieplnych pokazuje, że w obrębie najbliższego otoczenia wylosowanego punktu centralnego znajdującego się w obszarze zwieńczeń gęstość jest w miarę zbliżona, co sugeruje podobne wysyce-

nie solami wapnia. Dla każdej badanej próbki w odległości ok. 0.3 mm od centrum wzrasta udział pikseli i wartości ok. 20, odpowiadającej tkance miękkiej. Daje to informację o niewielkich rozmiarach grudek, co zgadza się z obserwacjami poczynionymi w ramach badań wykonywanych podczas pracy inżynierskiej oraz wizualnej oceny przekrojów przez zastawki wykonanych techniką mikrotomografii komputerowej.

Wyniki analizy przedstawiono w postaci map cieplnych, które niestety mogą być dość problematyczne w interpretacji, jednak okazały się w tym przypadku najlepszym rozwiązaniem. Autorka nie znalazła sposobu na przedstawienie ich w jasnej, liczbowej postaci, lecz być może w przyszłości idea ta zostanie rozwinięta.

5.2 ANALIZA JAKOŚCIOWA STRUKTURY I KSZTAŁTU ZŁOGÓW WAPIENNYCH W ZASTAWKACH

W kolejnej części analizy jakościowej obrazów mikrotomograficznych płatków półksiężycowatych zastawek aortalnych pod kątem występujących tam zwieńczeń skupiono się na ocenie kształtu i struktury grudek. Dokonano tego dość łatwy sposób, zliczając pojedyncze złogi wapienne na obrazie 3D (po jego wcześniejszych zbinaryzowaniu na podstawie ustalonego progu jasności), a następnie wykonując jedną z operacji morfologicznych - erozję i ponownie sprawdzając ich liczbę. Do wykonania tych czynności posłużyono się autorskim makrem *Erode.ijm*, w którym skorzystano z dwóch *pluginów* dostępnych w programie *Fiji - Particle Analyser* oraz *Erode(3D)*. Ich działanie opisano w kolejnych podrozdziałach pracy magisterskiej.

5.2.1 PARTICLE ANALYSER

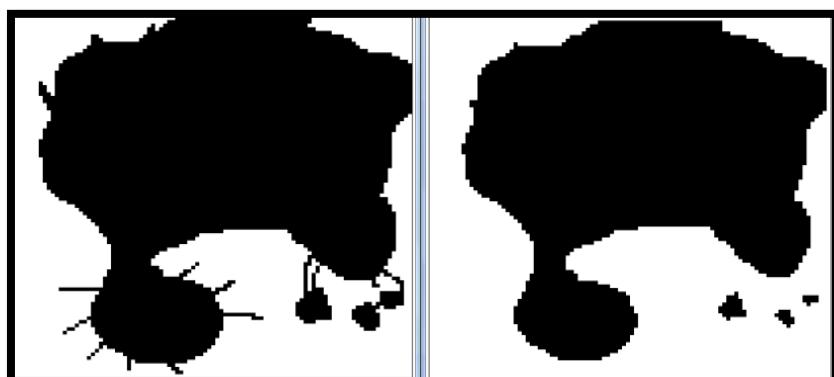
Wtyczka (ang. *plugin*) *Particle Analyser* służy do analizy obiektów na zbinaryzowanych obrazach pod kątem ich średnicy, grubości, pola powierzchni, objętości, czy też charakterystyki Eulera. Metoda ta umożliwia także pracę na obiektach o określonych z góry wymiarach, ponieważ w trakcie uruchamiania wtyczki Użytkownik jest proszony o podanie minimalnej i maksymalnej objętości zliczanych obiektów, klasyfikującej je jako indywidualne byty.

Wyniki prezentowane są w postaci tablicy z uzyskanymi w trakcie pomiarów wielkościami oraz mapy, na której znajdują się wszystkie odnalezione obiekty. Każdemu z nich przypisany zostaje inny kolor i wartość, tzw. etykieta.

Podczas analizy złogów wapiennych ustalono minimalną objętość pojedynczej grudki jako 0.0001 mm^3 , gdyż mniejsze wartości uznano odgórnie jako zakłóczenia (szumy) na obrazie nie dające istotnych informacji.

5.2.2 ERODE(3D)

Kolejny *plugin*, *Erode (3D)*, należy do grupy filtrów morfologicznych operujących na przestrzeni trójwymiarowej. Jego działanie opiera się na zmniejszeniu obszaru obiektu w wyniku nałożenia maski w postaci sześcianu o boku 3. Która sprawdza sąsiedztwo voxela i na tej podstawie ocenia, czy należy go usunąć. W wyniku otrzymuje się pomniejszony obiekt.



Rysunek 5.6. Przykład działania operacji morfologicznej - erozji; po lewej - obiekt przed erozją, po prawej - po erozji.

Filtr ten znalazł zastosowanie w trakcie wykonywania analiz grudek wapiennych w ramach niniejszej pracy magisterskiej. Wykonanie wielokrotnej erozji pozwoliło m.in. na ocenę stopnia pofałdowania grudek - im jest ono większe, tym bardziej widoczne są zmiany na krzywej zależności liczby obiektów od ilości wykonanych operacji erozji.

5.2.3 ERODE.IJM - MAKRO WYKORZYSTANE DO JAKOŚCIOWEJ ANALIZY STRUKTURY I KSZTAŁTU ZŁOGÓW WAPIENNYCH

Do przeprowadzenia analizy zależności liczby pojedynczych grudek od ilości przeprowadzonych procesów erozji wykorzystano autorskie makro, którego kod dla przykładowej zastawki Z13 przedstawiono poniżej.

```
selectWindow("Z13-1.tif");
run("Particle Analyser", "min=0.0001 max=Infinity surface_resampling=2 show_particle surface=Gradient split=0.000 volume_resampling=2 labelling=Mapped slices=2");
selectWindow("Z13-1.tif");
run("Erode (3D)", "iso=255");
```

Przed jego uruchomieniem przeskalowano zastawki, zmniejszając ich rozmiar dwukrotnie w każdym kierunku: x, y i z. W ten sposób zredukowano rozmiar pamięci, jaką zajmowały na dysku, co znacznie usprawniło przeprowadzenie niezbędnych analiz. Warto zaznaczyć, iż kolejne operacje erozji były wykonywano do momentu, w którym z obrazu zniknęły wszystkie interesujące obiekty.

Podczas testowania makra w początkowej fazie zliczano grudki przy użyciu opcji *3D Objects Counter* (*Analyze → 3D Objects Counter*). Okazało się jednak, że wymaga to zbyt dużej ilości pamięci operacyjnej komputera, co uniemożliwiło sprawne przeprowadzenie niezbędnych obliczeń, biorąc pod uwagę niewystarczające możliwości posiadanego sprzętu komputerowego. Było to bezpośrednią przyczyną do rozpoczęcia poszukiwań nowej, lepszej i przede wszystkim - mniej wymagającej metody. Wybór padł na *Particle Analyser* - bezpłatny, ogólnodostępny *plugin*, który dawał satysfakcjonujące wyniki przy znacznie mniejszym nakładzie pamięci RAM.

W wyniku działania autorskiego makra *Erode.ijm* otrzymano dane, na podstawie których sporządzono wykresy zależności liczby zliczonych grudek wapiennych od ilości wykonanych operacji erozji (iteracji). Na podstawie krzywej można wysnuć hipotezę o strukturze analizowanych złogów, a mianowicie - czy są pojedynczymi aglomeratami (małymi bądź dużymi), czy tworzą skupiska, które po kilkukrotnym morfologicznym zmniejszeniu dzielą się na kilka mniejszych obiektów, czy są pofałdowane, czy też o równomiernym kształcie i gładkiej powierzchni.

5.2.4 ANALIZA JAKOŚCIOWA KSZTAŁTU I STRUKTURY GRUDEK WAPIENNYCH PRZY WYKORZYSTANIU OPERACJI EROZJI

5.2.4.1 KLASYFIKACJA ZASTAWEK

Po wykonaniu wszystkich wykresów zależności liczby zliczonych obiektów (grudek o objętości powyżej 0.0001 mm^3) od ilości wykonanych operacji erozji zaobserwowano, iż na podstawie kształtu powstałych krzywych można podzielić zastawki na trzy grupy:

Grupa 1: Z20, Z26, Z29, Z30, Z40, Z41, Z49.

Grupa 2: Z12, Z13, Z16, Z21, Z22, Z23, Z24, Z25, Z28, Z31, Z32, Z33, Z36, Z37, Z39, Z42, Z46, Z50, Z52, Z53, Z57, Z58, Z60, Z61.

Grupa 3: Z44, Z47, Z54, Z55, Z56.

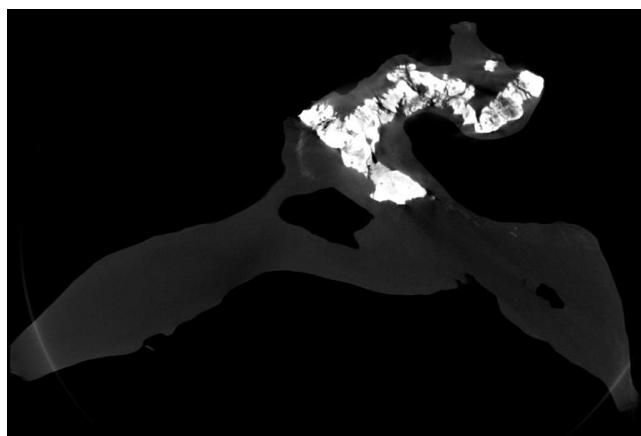
Następnie dokonano charakterystyki każdej z nich, biorąc pod uwagę zawartość procentową zwapnień, średni rozmiar pojedynczej grudki, udział procentowy frakcji ciężkiej we wszystkich złogach oraz pofałdowanie zastawki (tab. 7.5-7.9, dodatek A).

5.2.5 WYNIKI PRZEPROWADZONEJ ANALIZY

Podczas analizy z wykorzystaniem autorskiego makra opisanego w poprzednim podrozdziale uzyskano szereg istotnych informacji, w tym najważniejszą - liczbę grudek uzyskaną po każdym procesie erozji. Wartość tę należało spisać bezpośrednio po wykonaniu operacji morfologicznej (erozji) i zliczeniu obiektów w 3D, aby uniknąć nadpisywania wyników po kolejnej iteracji. W rezultacie otrzymano zależność liczebności grudek od ilości przeprowadzonych erozji. Przedstawiono ją w postaci wykresów (dodatek B) sporządzonych w programie *Gnuplot*, który w łatwy i szybki sposób pozwala zobrazować dane wejściowe na przejrzystych wykresach, które można zapisać w dowolnym formacie - *png*, *jpg*, *bmp*, itd.

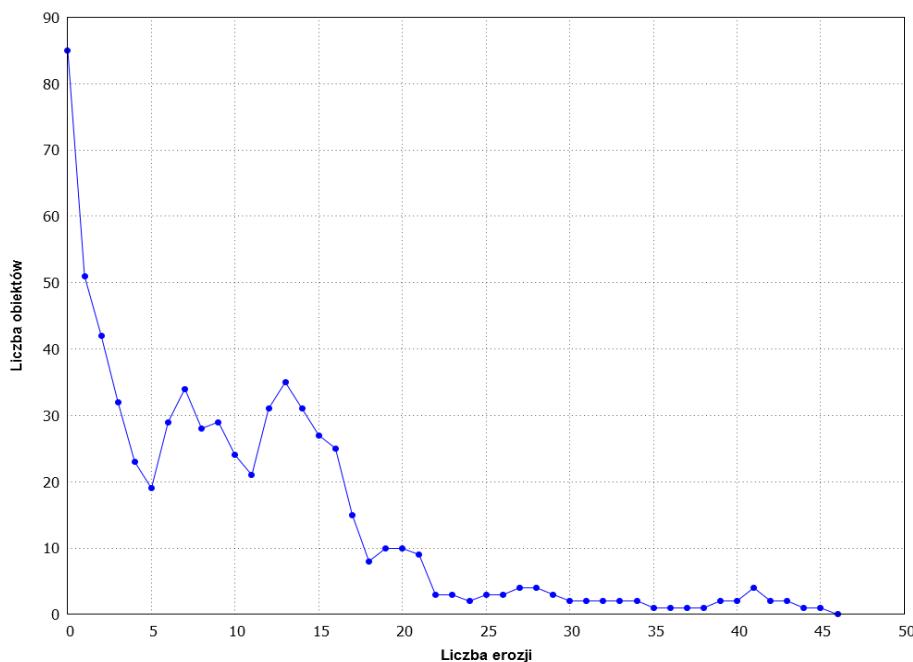
5.2.5.1 GRUPA 1

Pierwsza analizowana grupa liczyła 7 zastawek. Płatki charakteryzowały się tam małą zawartością procentową złogów (maksymalna wartość to 14.8%), o największym udziale frakcji ciężkiej (ok. 30%) i średnim rozmiarze złogów wynoszącym ok. 0.63 mm. Były one zbite i posiadały jednolitą strukturę, bez dużych wahań gęstości, co wywnioskowano na podstawie makroskopowej obserwacji przekrojów mikrotomograficznych. Pofałdowanie płatka (liczone jako stosunek powierzchni do objętości) wynosiło ok. 5, natomiast ich objętość była zdecydowanie najmniejsza wśród pozostałych grup, średnio wynosiła jedynie 447.8 mm^3 .



Rysunek 5.7. Pojedynczy przekrój przez zastawkę Z26

Z26



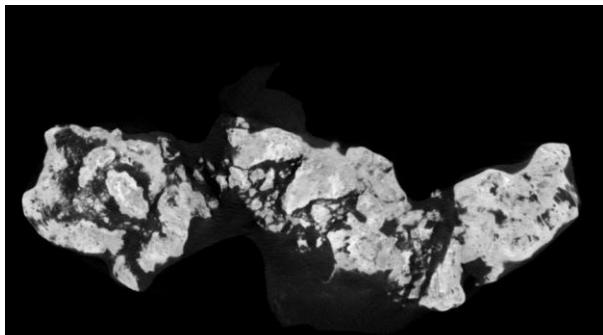
Wykres 5.4. Zależność liczby zliczonych grudek od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z26

Analizy wykresu zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych procesów erozji dokonano na przykładzie jednej z zastawek należącej do grupy 1 - Z26. Pokazano na niej sposób interpretacji sporządzonych krzywych umożliwiający wyciągnięcie cennych informacji na temat złogów wapiennych.

Na postawie wykresu 5.4 i rysunku 5.7 można stwierdzić, że grudki wapienne znajdują się w płatku półksiężycowatym zastawki Z26 są skupione w jednym miejscu. Przez pierwsze 5 operacji erozji widać, że liczba zliczonych obiektów gwałtownie maleje, co świadczy o zniknięciu drobnych zwieńczeń znajdujących się na obrzeżach. Później widać nieznaczne wahania przebiegu wykresu (gwałtowne spadki i wzrosty) wynikające z wyodrębnianiem się niewielkich złogów z większych skupisk, wpływające tym samym na liczbę zidentyfikowanych grudek. Sytuacja ulega stabilizacji po ok. 20 erozjach, gdy liczba zliczonych aglomeratów wapiennych pozostaje na tym samym poziomie w miarę wykonywania kolejnych operacji morfologicznych. Może to sugerować, że pozostałe małe złogi (ok. 1-3) są zbite i stanowią niejako "rdzeń" większych skupisk obserwowanych na samym początku, ponieważ to one, jako jedyne, pozostały do samego końca podczas stopniowego zmniejszania obszaru obiektów.

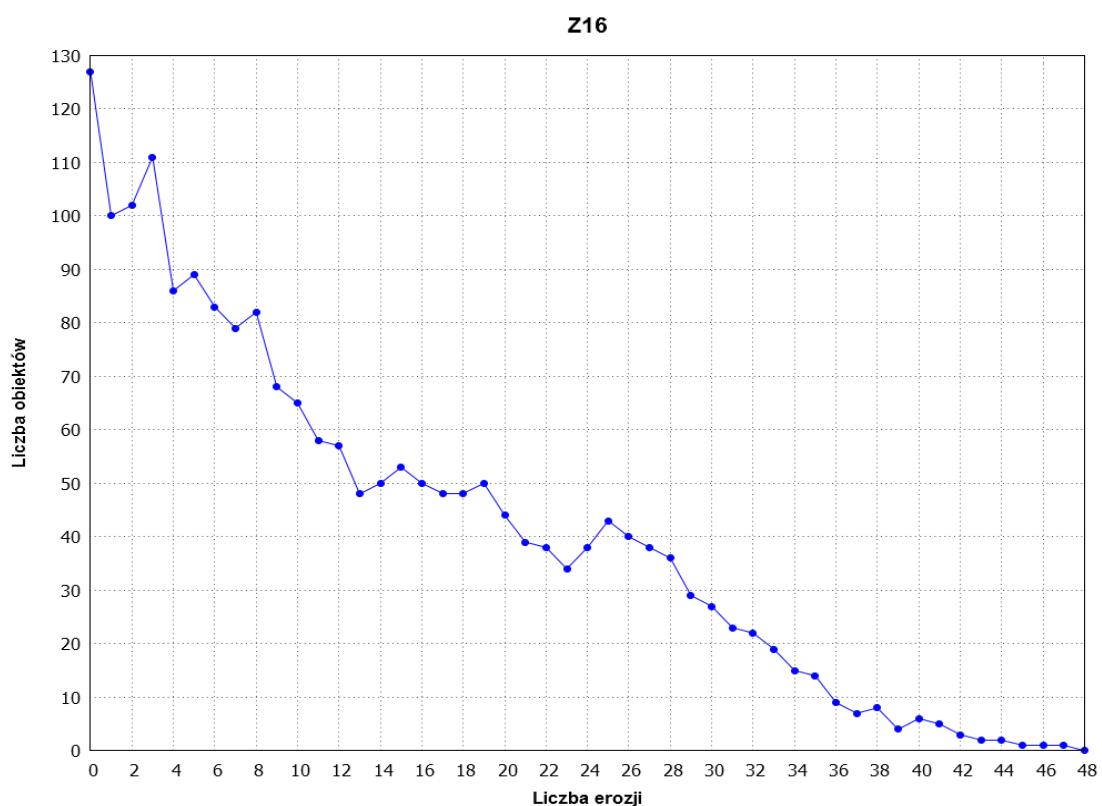
5.2.5.2 GRUPA 2

Grupa 2 była zdecydowanie najliczniejsza (24 próbki badawcze). Cechowała ją największa rozpiętość zawartości procentowej złogów w płatku półksiężycowatym (wynosząca średnio ok. 22%, podobnie jak w grupie 3) oraz najniższy udział frakcji ciężkiej -



jedynie 13.28%. Średnia objętość zaświatki była tutaj największa (ok. 1116.71 mm^3), podobnie jej pofałdowanie (średnio ok. 6.02). Pojedyncze grudki osiągają tu najmniejsze średnice, ok. 0.1 mm.

Rysunek 5.8. Pojedynczy przekrój przez zastawkę Z16



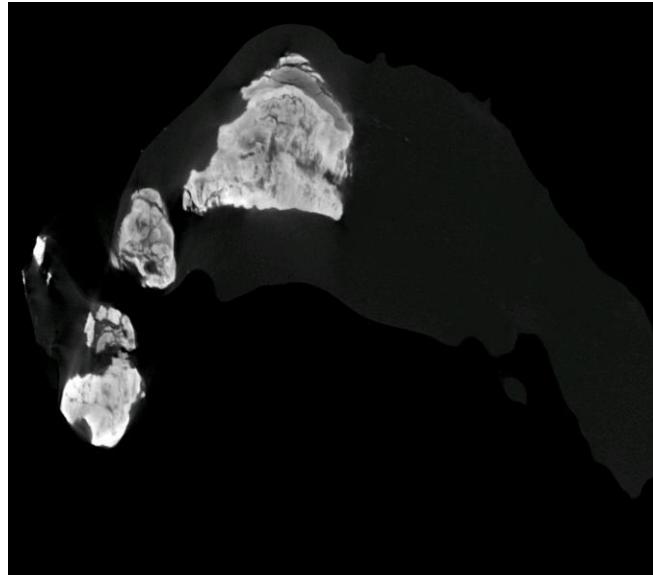
Wykres 5.5. Zależność liczby zliczonych grudek od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z16

Podobnie, jak w przypadku grupy 1, analizy dokonano na przykładzie jednej z zastawek, a mianowicie - Z16. Uznano ją za najlepszego reprezentanta, stąd też wyniki obserwacji można z powodzeniem odnieść do całej grupy 2.

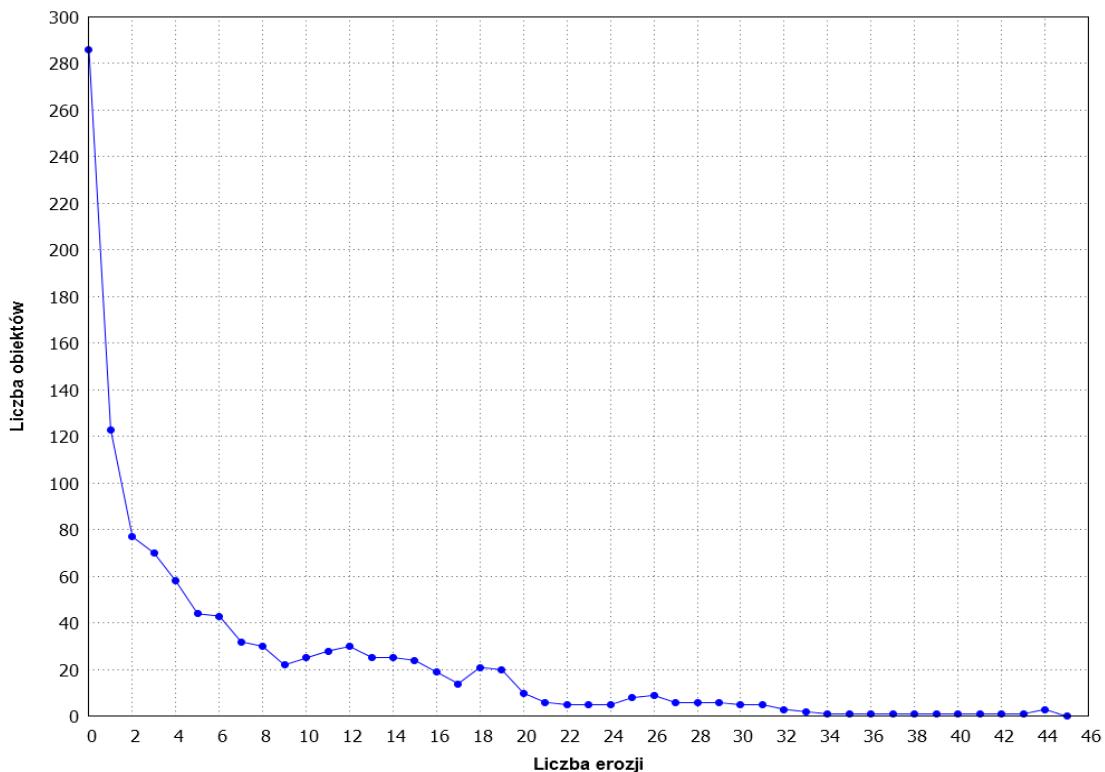
Jak widać na wykresie 5.5, zastawka Z16 nie posiada wielu złogów w swojej objętości. Jest ich początkowo ok. 130. Grudki posiadają jednak dość duży rozmiar i mały stopień pofałdowania, co można zauważyć na rysunku 5.8. Krzywa zależności ich liczebności od ilości wykonanych operacji erozji wykazuje łagodny spadek, bez większych wahań. Świadczy to o tym, że grudki znajdujące się w płatku mają zwartą strukturę i ciężko rozbić je ja kilka pojedynczych elementów.

5.2.5.3 GRUPA 3

Ostatnią, najmniej liczną grupę stanowiło 5 dość dużych płatków półksiężycowatych o średniej objętości wynoszącej ok. 899 mm^3 . Zawierały bardzo różną ilość zwapnień (średnio ok. 22%). Grudki wapienne były duże, osiągając ok. 0.7 mm średnicy. Miał dość regularny kształt oraz niski stopień pofałdowania całej zastawki (4.61).



Rysunek 5.9. Pojedynczy przekrój przez zastawkę Z55



Wykres 5.6. Zależność liczby zliczonych grudek od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z55

Początkowo krzywa opisująca zależność liczby zliczonych obiektów (grudek) od ilości przeprowadzonych operacji erozji dla Z55 gwałtownie spada, podlegając następnie niewielkim wahaniom. Po ok. 21 iteracjach można zauważyc stabilizację, pozostaje ok. 5 złogów. Po 34-tej erozji zliczono już jeden obiekt, najprawdopodobniej jest to centralna grudka o największej objętości, widoczna również na rysunku 5.9 (największe ziarno).

5.2.6 PODSUMOWANIE ANALIZY JAKOŚCIOWEJ ZŁOGÓW Z WYKORZYSTANIEM MORFOLOGICZNEJ OPERACJI EROZJI

Wykonywanie kolejnych operacji erozji na zbinaryzowanym obrazie przedstawiającym złogi wapienne w każdej zastawce, a następnie ich zliczanie pozwoliło na ocenę struktury i kształtu owych zwieńczeń. Grudki wykazujące duże pofałdowanie w miarę kolejnych procesów erozji rozdzielają się na kilka, czasem nawet kilkanaście drobniejszych ziaren traktowanych jako osobne obiekty, co widać na krzywej zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych iteracji w postaci licznych spadków i wzrostów.

Złogi o zbitej strukturze i stosunkowo dużych rozmiarach są mniej podatne na podział. Ich liczebność nie ulega znaczącym zmianom podczas kolejnych iteracji - zanikają sukcesywnie, stopniowo zmniejszając swoją objętość, bez oddzielania się nowych elementów. Krzywa ma łagodny przebieg. Można przypuszczać, że tego typu zwieńczenia występują w płatkach zastawek aortalnych pacjentów znajdujących się w późniejszych stadiach choroby, u których proces wapnienia jest na bardziej zaawansowanym poziomie. Pojedyncze drobne grudki w miarę progresji choroby miały bowiem czas, aby utworzyć większe skupiska o dużym wysyceniu solami wapnia.

6 ANALIZA ILOŚCIOWA ZŁOGÓW WAPIENNYCH - NOWE PODEJŚCIE

W ramach wcześniejszych badań wykonywanych w trakcie pracy inżynierskiej wyznaczono kilka istotnych parametrów ilościowych charakteryzujących złogi wapienne znajdujące się w płatkach półksiężycowatych zastawek aortalnych. Były to: objętość, powierzchnia, stopień pofałdowania, średni rozmiar określany na podstawie wielkości średnicy, udział procentowy w tkance miękkiej oraz zawartość frakcji ciężkiej, o jasności nie mniejszej, niż 190. Dzięki nim możliwe było opisanie zwieńczeń w sposób dość jasny i zrozumiały, za pomocą łatwych w interpretacji liczb i wykresów, stąd też podczas pracy magisterskiej również starano się odnaleźć kilka nowych atrybutów, dzięki którym uzyska się szersze spojrzenie na problem kalcyfikacji.

Kolejnym parametrem, jaki udało się uzyskać na podstawie obrazów mikrotomograficznych zastawek aortalnych był udział procentowy największej grudki w całości złogów. Jego oszacowanie było możliwe dzięki wykorzystaniu funkcjonalności programu *Fiji* z wtyczki *BoneJ - Purify*.

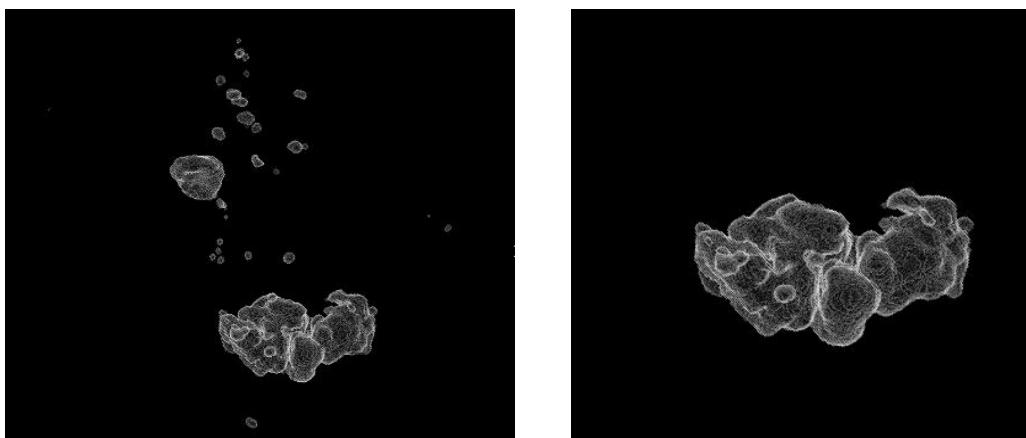
6.1 PURIFY

Opcja *Purify* niejako "oczyszcza" binarny obraz z niewielkich, oddzielnych struktur. Jej działanie polega na odszukaniu obiektów w 3D, a następnie usunięciu wszystkich, poza największym oraz tłem [25]. W ten sposób możliwe jest odseparowanie interesujących aglomeratów, w tym przypadku złogów.

Program wykorzystuje 3 algorytmy etykietowania: mapowany (szybki i wydajny pamięciowo), wielowątkowy, który wykorzystuje kilka rdzeni procesora, co znacznie przyspiesza pracę, oraz liniarny, stanowiący dość duże obciążenie dla pamięci RAM, jednak dość szybki w przypadku dużych obrazów, oczywiście przy odpowiedniej ilości dostęp-

nej wolnej pamięci. Przetworzony obraz może być zapisywany jako nowy obiekt, bądź nadpisywany na bieżący, w zależności od wybranej opcji [25].

Sposób działania opcji *Purify* został przedstawiony na przykładzie złogów wapiennych znajdujących się w zastawce Z40 (rys. 6.1).



Rysunek 6.1. Sposób działania opcji *Purify* na przykładzie zastawki Z40. Po lewej stronie znajduje się obraz 3D zwapnień, natomiast po lewej - największa grudka odseparowana za pomocą *Purify*.

6.2 WYNIKI ANALIZY ILOŚCIOWEJ Z WYKORZYSTANIEM PURIFY

Po zastosowaniu opcji *Purify* na zbinaryzowanych obrazach 3D zastawek aortalnych, zgodnie z oczekiwaniami otrzymano odseparowaną, największą grudkę. Następnie obliczono jej powierzchnię oraz objętość, aby móc je później porównać z ogółem zwapnień oraz całym płatkiem półksiążycowatym (tkanką miękką). Na tej podstawie oszacowano udział procentowy aglomeratu w złogach oraz całej badanej próbce. Dane zebrano w tabeli 9.10 (dodatek A).

Jak się okazało, dla większości próbek największa grudka stanowiła niemal całą objętość złogów. Zawartość procentowa mieści się tu w granicach 40-99%. Pomimo niejednolitości gęstościowej zwapnień (różne poziomy jasności w skalcyfikowanym obszarze) można wysnuć hipotezę, iż grudki mają tendencję do łączenia się ze sobą w jeden,

sporych rozmiarów aglomerat, wysycony w różnym stopniu solami wapnia. Jest to zgodne z makroskopowymi obserwacjami przekrojów mikrotomograficznych zastawek, gdzie znajduje się niewiele pojedynczych, drobnych grudek. Zwykle są one skumulowane w jednym fragmencie tkanki miękkiej, nie rozsiewają się losowo po całej dostęnej powierzchni. Być może wynika to z etiologii samego procesu kalcyfikacji, który opiera się na zaburzeniach metabolizmu, aktywnie angażując jednocześnie układ immunologiczny oraz komórki ścian tętnic naczyń krewionośnych a także osteoblasty.

7 ANALIZA STATYSTYCZNA

Eksperyment badawczy przeprowadzany w ramach pracy magisterskiej miał na celu powiązanie parametrów złogów wyznaczonych na podstawie obrazów uzyskanych techniką mikrotomografii komputerowej z obrazem klinicznym choroby pacjentów, od których pobrano próbki. Realizacja tego zadania była możliwa dzięki uprzejmości lekarzy ze Szpitala Jana Pawła II w Krakowie, którzy zgodzili się udostępnić wyniki badań osób poddanych chirurgicznej wymianie zastawki aortalnej. Dane zebrane w formie arkusza kalkulacyjnego, a następnie poddano szczegółowej analizie statystycznej opartej na badaniu rozkładu zmiennych oraz szukaniu wzajemnych korelacji między nimi, które pozwoliłyby na wysnucie wniosków na temat procesu kalcyfikacji a jego potencjalnymi czynnikami ryzyka.

Do przeprowadzenia niezbędnych obliczeń wykorzystano program *Statistica 12*. Jest to niezwykle rozbudowane narzędzie umożliwiające dokładne analizy statystyczne danych, wykonywanie popularnych testów parametrycznych i nieparametrycznych, badanie rozkładu zmiennych losowych oraz wzajemnej korelacji między nimi, a także rysowanie wykresów. Program ten okazał się niezastąpiony w pracy magisterskiej.

7.1 DANE KLINICZNE

W arkuszu kalkulacyjnym od lekarzy ze Szpitala Jana Pawła II znajdowały się częściowo anonimizowane dane pacjentów przedstawiające szczegółowe wyniki badań przeprowadzanych przed i po chirurgicznym usunięciu zastawki aortlanej i zastąpieniu jej przez sztuczną bioprotezę. Szereg parametrów dotyczył m.in. danych demograficznych - wieku, płci, nałogów, chorób oraz przyjmowanych leków, badań morfologicznych, immunologicznych oraz echokardiograficznych, a także szczegółów dotyczących zabiegu. Te ostatnie uznano jednak za mało interesujące w świetle obrazu klinicznego schorzenia, toteż pominięto je w dalszych analizach.

7.1.1 DANE DEMOGRAFICZNE

Próbki, czyli pojedyncze płatki zastawek aortalnych wycięte chirurgicznie 44 pacjentom pochodziły od 23 kobiet (53.3%) oraz 21 mężczyzn (47.7%). Ich średni wiek w momencie usunięcia zastawki wynosił 64 lata. Jak widać, były to osoby starsze, potwierdza, że kalcyfikacja jest procesem długotrwałym i w dużej mierze bezobjawowym, stąd często zdarza się, iż schorzenia zastawkowe są diagnozowane bardzo późno, gdy leczenie farmakologiczne nie ma już większego znaczenia ze względu na brak pozytywnych skutków. Najmłodszą osobą poddaną zabiegowi był 22-letni mężczyzna.

53.3% badanych posiadało zastawkę dwupłatkową (ang. *BAV - Bicuspid Aortic Valve*) będącą wadą wrodzoną występującą u ok. 1% ludności [13]. Jej etiologia nie jest znana, lecz jest to jeden z czynników ryzyka stenozy aortalnej - bardzo groźnej i jednej z najpowszechniejszych chorób układu krwionośnego.

Wszystkich pacjentów zmierzono i zważono, aby obliczyć wskaźnik *BMI* (ang. *Body Mass Index*) pozwalający na oszacowanie ilości tłuszczy w organizmie, a tym samym - ocenę prawidłowej masy ciała [12]. Wyniki zebrano w poniższej tabeli (tab. 7.1).

Tabela 7.1. Klasyfikacja pacjentów do grup na podstawie wskaźnika BMI

BMI	Procent wszystkich pacjentów zaklasyfikowanych do danej grupy na podstawie wskaźnika BMI [%]
Prawidłowe (19-25)	20.93
Nadwaga (25.5-30)	37.21
Otyłość (>30)	41.86

Jak widać, aż 41.86% badanych cierpało na otyłość. Jest to zgodne z przewidywaniami, biorąc pod uwagę fakt, że zbyt duża masa ciała wynikająca głównie z nadmiaru tkanki tłuszczowej to kolejny czynnik sprzyjający chorobom układu krążenia: miażdżycy, nadciśnieniu tętnicznemu oraz wadom zastawkowym, jak stenoza czy niedomykalność zastawki aortlanej.

Kolejnymi wartościami, na jakie zwróciła uwagę podczas analizy danych demograficznych dotyczących pacjentów były choroby, na jakie cierpieli. Wyniki ponownie zebrano w tabeli (tab.7.2).

Tabela 7.2. Choroby, na jakie cierpieli pacjenci poddani zabiegowi chirurgicznej wymiany zastawki aortalnej (AVR)

Choroba	Procent pacjentów cierpiących na dane schorzenie [%]
Nadciśnienie tętnicze	72.09
Dyslipidemia ¹⁰	78.57
Cukrzyca	18.60

Ponad 70% badanych cierpało na nadciśnienie tętnicze oraz dyslipidemię. Może to świadczyć o zaburzeniach w gospodarce lipidowej oraz problemach z nerkami. Są one niezwykle groźne dla układu krwionośnego, gdyż powodują odkładanie się nadmiernej ilości cholesterolu¹¹ w ścianach naczyń krwionośnych oraz zastawkach, co prowadzi do ich stwardnienia, a tym samym - nieprawidłowego funkcjonowania. Niezwykle ważne są zatem badania kontrolne poziomu lipidów w surowicy krwi bądź osoczu, z uwzględnieniem ich poszczególnych frakcji, jak LDL¹², HDL¹³, czy trójglicerydów¹⁴. Lekarze są jednak zdania, że wyniki te nie są bezpośrednim wykładeńkiem zagrożenia chorobami układu sercowo-naczyniowego. Podczas badań należy również wziąć pod uwagę inne choroby, na jakie cierpi pacjent (jak wspomniane wcześniej nadciśnienie tętnicze, cukrzyca), palenie papierosów, nadwagę, aktywność fizyczną itp., które stanowią tzw. osobniczy profil czynników ryzyka [12].

Z wywiadu przeprowadzonego z pacjentami wynika, że ze względu na schorzenia na jakie cierpieli, byli jednocześnie poddani leczeniu farmakologicznemu. Przyjmowali m.in. kwas acetylosalicylowy (ASA) - składnik popularnej aspiryny stosowanej również przy chorobach układu krwionośnego, np. chorobie wieńcowej, inhibitory konwertazy angiotensyny (ACEI) stosowane przy leczeniu nadciśnienia tętniczego, leki beta-adrenolityczne, tzw. β-blokery (podobnie, jak wymienione wcześniej ACEI pomagają w regulacji ciśnienia tętniczego krwi), blokery kanału wapniowego (Ca-blokery) powodujące zmniejszenie napływu tych jonów do wnętrza komórki, a tym samym - zmniejszenie napięcia mięśniowego oraz statyny - jedne z najpopularniejszych leków obniżają-

¹⁰ Dyslipidemia to zaburzenia gospodarki lipidowej w organizmie

¹¹ Cholesterol jest lipoproteiną (związkiem białkowo-tłuszczowym) będącą niezbędnym elementem błon komórkowych i substancją służącą do produkcji hormonów i kwasów tłuszczykowych. Produkowany jest niemal wszędzie, a rozkładany w wątrobie, gdzie wraz z żółcią trafia do jelita [12].

¹² LDL (ang. Low Density Lipoproteins) - frakcja cholesterolu o niskiej gęstości [12].

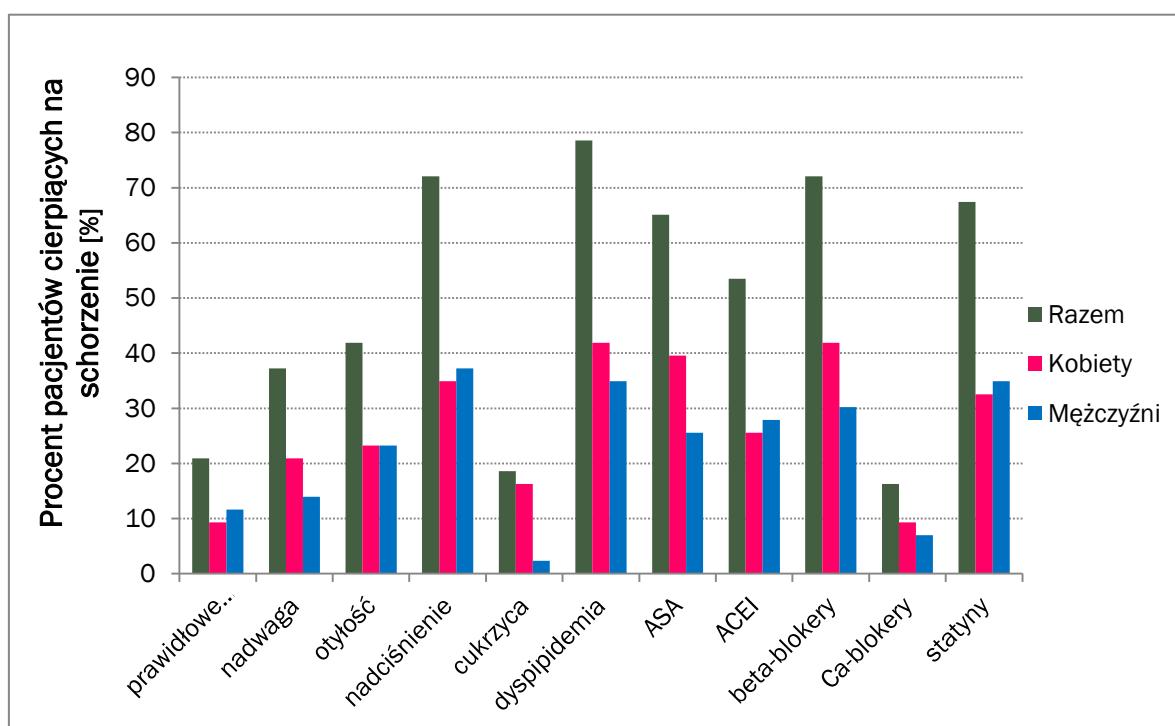
¹³ HDL (ang. High Density Lipoproteins) - frakcja cholesterolu o wysokiej gęstości [12].

¹⁴ Triglicerydy - mieszanina elementów składowych tłuszczy; frakcja ta pozwala na ocenę ilości spożywanych tłuszczy [12].

cych poziom cholesterolu w surowicy oraz osoczu krwi. Można się spodziewać, że przyjmowanie tych farmaceutyków częściowo wpłynęło na wyniki pozostałych badań wykonanych podczas leczenia klinicznego, utrudniając powiązanie ich z parametrami morfologicznymi zastawek, co dałoby istotne informacje na temat etiologii wad zastawkowych spowodowanych procesem kalcyfikacji. Mimo to postanowiono podjąć próbę i sprawdzić, czy między posiadanymi danymi istnieją korelacje.

Tabela 7.3. Procentowy udział pacjentów przyjmujących określona grupę leków

Lek	Procent pacjentów zażywających lek [%]
ASA ¹⁵	65.12
ACEI ¹⁶	53.49
β-blokery	72.09
Ca-blokery	16.28
Statyny	67.44



Wykres 7.1. Udział procentowy pacjentów cierpiących na dane schorzenie/ przyjmujących określone leki/ zaklasyfikowanych według wskaźnika BMI

¹⁵ ASA - kwas acetylosalicylowy

¹⁶ ACEI - inhibitory konwertazy angiotensyny

Na podstawie wykresu 7.1. można powiedzieć, że najwięcej pacjentów, bo aż ok. 80%, cierpało na dyslipidemię - schorzenie polegające na zaburzonej gospodarce lipidowej (głównie cholesterolowej). Duży odsetek badanych chorował na nadciśnienie tętnicze. Oba schorzenia były w większości przypadków wykryte i leczone - dyslipidemia statynami (78.89%), a nadciśnienie tętnicze - ACEI (25.81% chorych na HA¹⁷), β-blokerami (29.03%) lub połączeniem obu leków (45.16%).

Rozkład schorzeń u obu płci jest porównywalny. Kobiety nieznacznie częściej cierpały na dyslipidemię i cukrzycę, natomiast mężczyźni - na nadciśnienie tętnicze. Wiąże się to zapewne z różnicami metabolycznymi wynikającymi np. z odmiennej gospodarki hormonalnej będącej skutkiem przystosowania ewolucyjnego płci.

7.1.2 WYNIKI BADAŃ MORFOLOGICZNYCH KRWI

Kolejnym zestawem danych klinicznych były wartości liczbowe wybranych parametrów wyznaczonych w trakcie badań morfologicznych. Wyboru dokonano w oparciu o literaturę na temat zwarcenia zastawek aortalnych i jego przyczyn. Według teorii, tworzeniu się zwarcie towarzyszą zaburzenia gospodarki lipidowej (szczególnie cholesterolowej), problemy z nerkami oraz stany zapalne. W związku z tym zbadano zależność danych liczbowych dotyczących złogów z poziomem cholesterolu we krwi (w tym oddzielnie frakcji LDL i HDL), trójglicerydów (TGL), bazofili¹⁸, białka ostrej fazy (CRP¹⁹), kreatyniny, mocznika i GFR²⁰, a także 2 niezwykle ważnych dla fizjologii pierwiastków - sodu (Na) i potasu (K). Są one wykorzystywane do pracy pompy sodowo-potasowej biorącej udział we wszystkich procesach metabolicznych.

Według wyników wstępnej analizy, 75% badanych miało podwyższony poziom cholesterolu, w tym 70% stanowiły kobiety, a 30% - mężczyźni. Potwierdza to hipotezę o tym, że nieprawidłowa gospodarka lipidowa zwykle towarzyszy płci żeńskiej i jest jednym

¹⁷ HA - nadciśnienie tętnicze

¹⁸ Bazofile to granulocyty zasadowe, których wzrost liczebności świadczy o przewlekłych stanach zapalnych [12].

¹⁹ Białko C-reaktywne (CRP) jest proteiną będącą najlepszym laboratoryjnym wskaźnikiem odczynu zapalnego w organizmie. Pozwala ono rozpoznać infekcje, zawały, zakrzepy oraz skuteczność leczenia antybiotykowego [12].

²⁰ GFR - wskaźnik wartości przesączania kłębusekowego mówiący o pracy nerek [12].

z czynników ryzyka chorób układu krwionośnego, w tym również wapnienia zastawek aortalnych prowadzącego do ich niedomykalności oraz stenozy.

Zgodnie z danymi literaturowymi, zwiększone ryzyko obu schorzeń zastawek aortalnych występuje przy toczących się stanach zapalnych. Ich markerem jest poziom białka ostrej fazy - CRP. Podwyższone stężenie tego związku posiadało ok. 22% badanych, co zdaje się częściowo potwierdzać hipotezę o aktywnym charakterze kalcyfikacji.

Na podstawie wskaźnika GFR oszacowano, czy pacjenci mieli problemy z nerkami. U 11.9% chorych stwierdzono upośledzenie pracy tego narządu, natomiast u jednego - niewydolność.

7.1.3 WYNIKI BADAŃ IMMUNOLOGICZNYCH

Według przeprowadzanych wcześniej badań kalcyfikacja jest procesem aktywnym, angażującym układ immunologiczny. Towarzyszą mu często stany zapalne, które można zidentyfikować na podstawie analizy obecności białka C-reaktywnego (CRP) we krwi. Lekarze ze Szpitala Jana Pawła II w Krakowie w trakcie badań klinicznych wyznaczyli szereg parametrów charakteryzujących aktywność układu odpornościowego. Mowa głównie o wywodzących się z białych krvinek limfocytach z grupy T oraz B odpowiadających za **odpowiedź odpornościową swoistą (nabytą)** opartą na rozpoznawaniu抗原ów²¹ [12]. Już przy pierwszym kontakcie z drobnoustrojem komórki te są w stanie zapamiętać jego budowę, aby w przyszłości móc szybko reagować, unieszkodliwiając je za pomocą wiążących się z antygenami przeciwciał.

Układ odpornościowy jest niezwykle wyspecjalizowany, aby skutecznie bronić ustrój przed różnego typu zagrożeniami, stąd też poszczególne subpopulacje limfocytów pełnią nieco odmienne funkcje. Można do nich zaliczyć **limfocyty B** stanowiące tzw. "pamięć" immunologiczną, chroniące organizm przed ponownymi zakażeniami, **limfocyty T**, odpowiadające za reakcje odpornościowe ukierunkowane na konkretne drobnoustroje oraz **komórki NK**, tzw. *naturalni zabójcy* (ang. *natural killer cells*), które za pomocą enzymów i trucizn w nich zawartych są w stanie wybiórczo atakować i unicestwiać chorobotwórcze komórki.

²¹ Antygeny są to substancje białkowe lub ciała obce, które powodują produkcję odpowiednich przeciwciał. Ich obecność sprawia, że każdy organizm jest niepowtarzalny ze względu na to, iż rozpoznaje własne przeciwciała, a niszczy wszelkie obce [27].

Do oceny sprawności czynnościowej układu odpornościowego stosuje się w szeregu badań laboratoryjnych, w których materiałem jest krew żylna. Zaliczamy do nich m.in. wyznaczenie ilości krwinek białych (leukocytów), określenie funkcji granulocytów, limfocytów, obecności ich poszczególnych subpopulacji, a także przeciwciał swoistych oraz抗原ów dla danych drobnoustrojów. Wszystkie mają na celu rozpoznanie ewentualnych ubytków odporności. Mają także duże znaczenie w diagnostyce często nawracających infekcji oraz alergii.

Na zaburzenia układu immunologicznego wskazuje w pierwszym podejściu obniżona lub podwyższona liczba danej subpopulacji limfocytów (tab. 7.4) [12].

Tabela 7.4. Odchylenia w liczbie limfocytów przy poszczególnych schorzeniach układu odpornościowego.

Limfocyty	Podwyższona liczba	Obniżona liczba
Limfocyty T	<ul style="list-style-type: none"> Infekcja 	<ul style="list-style-type: none"> Upośledzenie funkcji układu odpornościowego
Limfocyty T pomocnicze (Th)	<ul style="list-style-type: none"> Alergie Choroby autoimmunologiczne Alergie skórne (atopie) Przewlekłe zapalenie stawów Zakażenia bakteryjne i grzybicze 	<ul style="list-style-type: none"> <400 kom./μl - zwiększone ryzyko infekcji na skutek obniżenia odporności <200 kom./μl - niedobór immunologiczny Ostry spadek przy nowotworach węzłów chłonnych Gruźlica AIDS
Limfocyty T supresory/cytoksyczne (Tc)	<ul style="list-style-type: none"> Infekcje wirusowe (np. HIV) Reakcja odrzucania przeszczepu Nowotwory węzłów chłonnych 	<ul style="list-style-type: none"> Stwardnienie rozsiane Toczeń układowy Choroby reumatologiczne
Limfocyty B	<ul style="list-style-type: none"> Przewlekłe infekcje Zakażenia wnikające głęboko w tkanki (np. czyraki) 	<ul style="list-style-type: none"> Stres psychiczny Utrzymujące się długo stany bólowe Duży wysiłek fizyczny

W tabeli 7.5 przedstawiono prawidłowe wartości limfocytów, na podstawie których za-klasyfikowano pacjentów do 3 grup: o obniżonym, prawidłowym i podwyższonym po-ziomie tych komórek we krwi żylnej (tab.7.6) [12][28].

Tabela 7.5. Wartości prawidłowe limfocytów [12][28]

Limfocyty	Norma [%]
T	65-81
Th	34-48
Tc	26-36
B	8-14
NK	9-21
Th/Tc	1.1-1.7

Tabela 7.6. Klasyfikacja pacjentów do 3 grup ze względu na liczbę limfocytów we krwi żylnej

Limfocyty	Obniżone [%]	Prawidłowe [%]	Podwyższone [%]
T	18.19	72.73	9.09
Th	4.55	47.73	47.73
Tc	79.55	18.18	2.27
Th/Tc	27.28	25.00	47.73
B	20.45	50.00	29.55
NK	45.46	40.91	13.64
NKT	31.82	65.91	2.27

Duży odsetek pacjentów miał podwyższony poziom limfocytów pomocniczych (Tc) oraz B, co może świadczyć m.in. o przewlekłych infekcjach, jakie toczyły się w ich organi-zmie lub chorobach autoimmunologicznych, w tym też dotykających stawów. Być może jest to związane także z procesem zapalnym towarzyszącym kalcyfikacji zastawki aort-lanej, co potwierdzałoby wcześniejsze hipotezy.

7.1.4 WYNIKI BADAŃ ECHOKARDIOGRAFICZNYCH

Ostatnią grupą analizowanych danych liczbowych były wyniki badań echokardiograficznych serca pacjentów. Obejmowały one m.in. stopień zwępnienia zastawki aortalnej (1-4), maksymalną prędkość przepływającej przez nią krwi (V_{max}), maksymalny i średni gradient ciśnienia (PG_{max} , $PG_{średni}$), ciśnienie skurczowe i rozkurczowe, pole powierzchni zastawki aortalnej (AVA), indeks określający jej sztywność (*Stiffness index*; oszacowany na podstawie wartości ciśnienia skurczowego i rozkurczowego serca oraz mierzonego w odległości 3 cm nad zastawką), rozwarstwienie (*Aortic Strain*) oraz poszerzenie (*Aortic Distensibility*).

Według danych literaturowych, parametry te pozwalają na ocenę stopnia zaawansowania obu schorzeń dotykających zastawki aortalnej: stenozy powstałej na skutek kalcyfikacji oraz ich niedomykalności. Szczególnie przydatne w tym celu są gradienty ciśnienia przepływającej przez zastawkę krwi, powierzchnia ujścia oraz maksymalna prędkość krwi. Przedziały wartości klasyfikujących pacjenta do danej grupy na podstawie zaawansowania choroby zebrane w tabeli 3.4. Na ich podstawie oceniono udział procentowy pacjentów o danym stopniu stenozy aortalnej w całej populacji badanych. Okazało się, że najwięcej osób, bo aż 56.1% posiadało umiarkowanie ciężkie stadium choroby, 39% - ciężkie, natomiast 4.9% (2 osoby) - umiarkowane. Nie stwierdzono obecności przypadków z niskim stopniem zwężenia zastawki. Powodem najprawdopodobniej jest brak konieczności chirurgicznej wymiany zastawki ze względu na jej niskie zwępnienie.

Kolejnym ciekawym parametrem jest stopień zwępnienia podany jako wynik badania klinicznego. Przyjmował on wartości od 1-4, przy czym aż 50% badanych otrzymało najwyższą notę, u 45.2% oceniono kalcyfikację na 3, natomiast tylko 2.4% (czyli jedna osoba) otrzymało wartość 1 lub 2. U pacjentów nie stwierdzono istotnych zmian w ciśnieniu krwi. Być może jest to wynikiem przyjmowania leków na nadciśnienie tętnicze, które stabilizują wartości ciśnienia skurczowego (u 18% badanych było nieznacznie podwyższone) i rozkurczowego.

7.2 KORELACJA RANG SPEARMANA

Do wyznaczenia zależności pomiędzy danymi dotyczącymi parametrów wyznaczonych podczas analizy mikrotomograficznej wyciętych płatków a danymi klinicznymi dotyczącymi pacjentów, od których je pobrano, wykorzystano nieparametryczną statystykę - **współczynnik korelacji rang Spearmana**, ρ . Jest on wykorzystywany do mierzenia do wolnej, monotonicznej zależności i nie wymaga normalności rozkładu zmiennej, co stanowi zarówno dużą zaletę, jak i wadę, bowiem jest on tym samym ogólniejszy od współczynnika korelacji liniowej Pearsona, lecz jednocześnie można go stosować w przypadku skali porządkowej danych, nie tylko liczbowej.

Do zbadania zależności między danymi wykorzystano program *Statistica 12*. Dzięki temu narzędziu w łatwy i szybki sposób można zbadać dużą liczbę danych, uzyskując satysfakcjonujące wyniki. W celu zbadania zależności między wartościami danych parametrów skorzystano ze statystyk nieparametrycznych, wybierając opcję "Korelacja rang Spearmana". Poziom ufności α wynosił 0.05. Otrzymane wyniki zebrano w tabelach 9.11-9.17 (dodatek A).

7.2.1 KORELACJA MIĘDZY DANYMI DEMOGRAFICZNYMI A PARAMETRAMI MORFOLOGICZNYMI ZŁOGÓW

Istotne zależności między danymi demograficznymi a parametrami złogów wyznaczonymi na podstawie obrazów mikrotomograficznych zastawek (zwanych dalej parametrami morfologicznymi) odkryto jedynie w 5 przypadkach. Słabą korelację ujemną otrzymano dla objętości zastawki i wieku osoby ($\rho=-0.359$, co oznacza, że im starszy pacjent, tym mniejszy pątek zastawki aortalnej posiada), objętości zastawki i płci ($\rho=-0.317$; u mężczyzn płatki są większe, niż u kobiet), zawartości procentowej frakcji ciężkiej w grudkach i dwupłatkowości ($\rho=-0.486$, co oznacza, że w dwupłatkowych zastawkach jest mniej złogów o bardzo dużej gęstości) oraz dla zawartości procentowej

frakcji ciężkiej złogów i występowaniu dyslipidemii ($\rho=-0.314$; pacjenci cierpiący na zaburzenia w gospodarce cholesterolowej mają mniej złogów o dużej gęstości).

Silniejszą od poprzednich i dodatnią korelację zaobserwowano dla objętości zastawki i dwupłatkowości. Współczynnik korelacji rang Spearmana ρ wynosi tutaj 0.517 i mówi o tym, że wielkość pojedynczego płatka (będącego przedmiotem analiz mikrotomograficznych) jest większa, gdy pacjent posiada ich w zastawce aortalnej wyłącznie dwa. Jest to zgodne z logicznym rozumowaniem.

Podczas analizy nie wykryto monotonicznych zależności między parametrami morfologicznymi złogów wyznaczonymi na podstawie obrazów mikrotomograficznych a paleniem papierosów, cukrzycą, czy nadciśnieniem tętniczym, które mogły wystąpić, biorąc pod uwagę dane literaturowe dotyczące schorzenia będącego powodem chirurgicznej wymiany zastawki u pacjentów. Podobnie jest w przypadku korelacji z BMI, jednak po dokładniejszym przyjrzeniu się tym danym w skali porządkowej klasyfikującej pacjentów do 3 grup: o prawidłowym wskaźniku masy ciała, nadwadze oraz otyłości, można doszukać się umiarkowanej zależności dodatniej między zawartością procentową złogów, określoną współczynnikiem $\rho=0.317$. Świadczy to o tym, że nieprawidłowa, zbyt duża waga sprzyja odkładaniu się złogów w płatkach zastawek aortlanych, prowadząc do ich niedomykalności i sztywności.

Na podstawie danych demograficznych dokonano także ciekawej obserwacji potwierdzającej znane zależności dla cukrzycy (tab.7.7). Prawdopodobieństwo tego schorzenia rośnie z wiekiem ($\rho=0.444$) i częściej cierpią na nią kobiety ($\rho=0.326$). Dodatkowym czynnikiem ryzyka jest także zbyt wysoki wskaźnik BMI ($\rho=0.447$).

Tabela 7.7. Korelacja między cukrzycą a wiekiem, płecią oraz wskaźnikiem BMI pacjentów.

Para zmiennych	Wartość współczynnika korelacji rang Spearmana
Cukrzyca - wiek	0.444
Cukrzyca - płeć	0.326
Cukrzyca - BMI	0.447

7.2.2 KORELACJA MIĘDZY WYNIKAMI BADAŃ MORFOLOGICZNYCH A PARAMETRAMI MORFOLOGICZNYMI ZŁOGÓW

Analizując wartości liczbowe współczynnika korelacji rang Spearmana (tab. 9.13 i 9.14, dodatek A) można powiedzieć, że powiązania parametrów morfologicznych złogów wapiennych z wynikami badań morfologicznych praktycznie nie istnieją. Niewielką korelację ujemną wykazała para zmiennych: objętość zastawki i bazofile ($\rho = -0.349$), jednak nie jest to wynik, który mógłby być rzeczywistym wskaźnikiem powiązania konkretnie z tą chorobą. Zwiększoną liczbą bazofili we krwi świadczy bowiem o przewlekłych stanach zapalnych towarzyszących np. chorobie reumatycznej, ich spadek sugeruje ostre infekcje oraz nadczynność tarczycy, także wiązanie ich z rozmiarem płatków zastawek zdaje się nie mieć większego sensu.

Kolejną wykrytą zależnością był średni rozmiar grudki i zawartość sodu ($\rho = 0.374$) oraz pofałdowanie grudki i poziom Na ($\rho = -0.392$). Oznacza to, że przy większych grudkach i mniej pofałdowanych płatkach wzrastało zapotrzebowanie na sód. Być może można to powiązać ze wzmożoną pracą pompy sodowo-potasowej.

Oprócz parametrów morfologicznych grudek zbadano także powiązania między parametrami morfologicznymi oraz danymi demograficznymi pacjentów. Dane zebrano w poniższej tabeli (tab. 7.8).

Tabela 7.8. Powiązanie między parametrami demograficznymi a wynikami badań klinicznych pacjentów

Para zmiennych	Wartość współczynnika korelacji rang Spearmana
Cholesterol – LDL	0.920
Cholesterol – HDL	0.439
Cholesterol – BMI	-0.343
Cholesterol – papierosy	0.338
Cholesterol - nadciśnienie tętnicze	-0.319
HDL – BMI	-0.539
HDL – papierosy	0.319
Kreatynina – mocznik	0.552
Kreatynina – GFR	-0.690
GFR – mocznik	0.664

Zgodnie z przewidywaniami teoretycznymi widać bardzo silne powiązanie między całkowitym cholesterololem a jego obiema frakcjami: lipoproteinami o niskiej gęstości (LDL; $\rho = 0.920$) oraz wysokiej gęstości (HDL; $\rho = 0.439$). Ciekawym spostrzeżeniem jest również, że osoby o niskim wskaźniku BMI miały większe problemy z prawidłowym poziomem cholesterolu we krwi, szczególnie z frakcją HDL. Nie jest to jednak powód do większych zmartwień, gdyż jest ona określana jako "dobry cholesterol", stąd też jej nadmiar nie powinien spowodować większych szkód w organizmie. Dodatkowo potwierdzono, że palenie papierosów pogarsza stan gospodarki lipidowej.

Na podstawie uzyskanych danych można także dokonać kilku obserwacji dotyczących pracy nerek. Wykazano korelację między trzema, ważnymi w tym przypadku parametrami: mocznikiem (końcowym produktem metabolizmu białek, którego nieprawidłowe stężenie w surowicy krwi może świadczyć o problemach z nerkami), kreatyniną (której stężenie biochemiczne powinno być względnie stałe) oraz GFR - wskaźnika filtracji kłębustkowej. Wraz ze wzrostem stężenia mocznika we krwi, u pacjentów rosła również ilość kreatyniny, co nie jest zjawiskiem pożądanym, bowiem może świadczyć o patologicznych zmianach w układzie wydalniczym. Kolejną ciekawą zależnością była ujemna korelacja między filtracją kłębustkową a stężeniem kreatyniny w surowicy oraz dodatnia między GFR oraz mocznikiem, która potwierdziła dobrze znane z teorii zależności.

Na podstawie wskaźnika GFR oszacowano, czy pacjenci mieli problemy z nerkami. U 1.9% chorych stwierdzono upośledzenie pracy tego narządu, natomiast u jednego - niewydolność. Jest to kolejny argument potwierdzający, iż funkcjonowanie układu wydalniczego wpływa na postępowanie kalcyfikacji naczyń krwionośnych i zastawek.

7.2.3 KORELACJA MIĘDZY WYNIKAMI BADAŃ IMMUNOLOGICZNYCH A PARAMETRAMI MORFOLOGICZNYMI ZŁOGÓW

Wartości współczynnika korelacji rang Spearmana dla danych immunologicznych oraz parametrów morfologicznych złogów wapiennych w zastawkach aortalnych pokazują umiarkowaną, dodatnią korelację między pofałdowaniem grudki a receptorami dla limfocytów T - CD3 ($\rho = 0.417$), Th (CD4; $\rho = 0.324$), Tc (CD8; $\rho = 0.411$) oraz NKT ($\rho = 0.363$), subpopulacją limfocytów T posiadającą zarówno właściwości komórek NK, jak i limfocytów T, a także ujemną korelację między tymi limfocytami a średnim rozmiarem grudki. Ujemną korelację wykazała także zawartość procentowa frakcji ciężkiej w grudkach oraz komórek NKT ($\rho = -0.311$), jak również zawartość procentowa złogów i receptorów dla limfocytów B (CD19).

Receptor CD3 jest białkiem powierzchniowym charakterystycznym dla wszystkich limfocytów T, stąd w przypadku ujemnej korelacji z parametrami grudek można zauważać również ujemną korelację subpopulacji tych limfocytów - pomocniczych (Th) wspomagających odpowiedź humoraną i komórkową układu odpornościowego oraz cytoksycznych/supresorowych (Tc), które niszczą drobnoustroje oraz komórki nowotworowe. Im większa jest grudka, tym mniej ma na swojej powierzchni receptorów limfocytów T oraz komórek NKT. Może to świadczyć o upośledzeniu odpowiedzi układu immunologicznego na toczący się proces chorobowy. Podobną zależność widać dla korelacji dodatniej, w przypadku pofałdowania grudki. Wraz z jego wzrostem rośnie ilość CD3, CD4, CD8 i NKT.

Ujemną korelację zaobserwowano także w przypadku komórek NKT odpowiedzialnych za immunoregulację, a także mających działanie cytoksykne oraz zawartością procentową frakcji ciężkiej w złogach. Wraz ze wzrostem udziału grudek o dużej gęstości, wysyconych solami wapnia, maleje ilość komórek NKT, co można uzasadnić zmniejszeniem odporności organizmu.

Ostatnią istotną zależnością, jaką zaobserwowano, była korelacja ujemna między zawartością procentową złogów a receptorami limfocytów B - CD19. Komórki te różnicują się w stronę komórek produkujących przeciwciało. Ich rola w układzie immunologicznym jest zatem znacząca. Wykryta zależność między zawartością procentową złogów może sugerować upośledzenie działania układu odpornościowego wraz ze wzrastającym stopniem zwarczenia.

7.2.4 KORELACJA MIĘDZY WYNIKAMI BADAŃ ECHOKARDIOGRAFICZNYCH A PARAMETRAMI MORFOLOGICZNYMI ZŁOGÓW

Wbrew sporym oczekiwaniom nie udało się zaobserwować silnych zależności między wynikami badań echokardiograficznych pacjentów a parametrami złogów wyznaczonymi dzięki technice mikrotomografii. Zgodnie z przewidywaniami teoretycznymi można się było spodziewać, że zawartość procentowa złogów w zastawce będzie silnie korelować z indeksem sztywności, powierzchnią ujścia aorty (powinna być tym mniejsza, im większe zwapnienie), gradientami ciśnienia krwi oraz prędkością jej przepływu. Wykonane obliczenia pokazały jednak co innego. Okazało się, że ujemną korelację wykazuje średni rozmiar grudki z frakcją wyrzutową serca ($\rho = -0.301$). Jest to bardzo interesujące spostrzeżenie, bowiem wiadomo, że spadek frakcji wyrzutowej lewej komory może świadczyć o jej niewydolności na skutek, np. chorób zastawkowych, czy nieleczonego nadciśnienia tętniczego. Prowadzi to do poważnych skutków - serce nie jest w stanie dostarczyć organizmowi odpowiedniej ilości bogatej w tlen krwi, co upośledza jego prawidłowe funkcjonowanie, obniżając wydolność całego organizmu i samopoczucie pacjenta. Przyczyną osłabienia pracy lewej komory serca mogą być zwężenia zastawki aortalnej oraz jej niedomykalność. Jak podpowiada logika - im większe grudki wapienne odkładające się w płatkach, tym trudniejszy przepływ krwi, a tym samym - mniejsza frakcja wyrzutowa lewej komory, która musi wykonać większą pracę, aby po- dołać zapotrzebowaniu organizmu na tlen.

Kolejne zależności zauważono w przypadku maksymalnego gradientu przepływu krwi przez zastawkę a udziałem procentowym frakcji ciężkiej w złogach ($\rho = -0.309$) oraz objętością płatka zastawki ($\rho = 0.350$). Im większa jest gęstość grudek, tym mniejszy gradient maksymalny. Sugeruje to, że przepływ krwi przez zastawkę nie jest jeszcze w znacznym stopniu upośledzony, co prowadzi do hipotezy, że procesy kalcyfikacji zastawek rozpoczynają się od powstania małych, bardzo gęstych zwapnień, które następnie rozrastają się, tworząc rozległe aglomeraty utrudniające prawidłowe funkcjonowanie płatków półksiężycowatych.

7.3 KORELACJA LINIOWA PEARSONA

W ramach analizy statystycznej wyznaczono również parametryczną statystykę określającą stopień korelacji danych - współczynnik korelacji liniowej r-Pearsona. Jej stosowanie jest możliwe w przypadku zmiennych o rozkładzie normalnym i skali liczbowej, należało zatem zbadać wszystkie parametry pod tym kątem.

Aby tego dokonać, posłużyono się testem Shapiro-Wilka, wybierając poziom istotności $\alpha = 0.05$. Test bada hipotezę zerową, która mówi o tym, że rozkład badanej zmiennej jest podobny do rozkładu normalnego. Wynik istotny świadczy o tym, że podobieństwo nie występuje.

Otrzymane dane zebrano w tabeli 9.18 w dodatku A. Pokazały one, że współczynnik korelacji r-Pearsona można wyznaczyć dla zależności zawartości procentowej złogów, gradientu maksymalnego (PG_{max}) i średniego (PG_{mean}), powierzchni ujścia zastawki aortalnej (AVA), cholesterolu i jego obu frakcji: LDL i HDL, prokalcitoniny (PCT), mocznika, trójglicerydów (TGL), receptorów limfocytów T - CD4 i B - CD19. Otrzymane wyniki analizy statystycznej zebrano w tabelach 9.19 oraz 9.20 (dodatek A) i porównano z wartościami współczynnika korelacji rang Spearmana.

W części wyników wartości współczynników korelacji - Spearmana i Pearsona były do siebie bardzo zbliżone (maksymalny gradient przepływu krwi przez zastawkę, AVA). Niektóre rezultaty nie pokrywały się jednak ze sobą. Ciekawe jest, że w przypadku zastosowania testu korelacji rang Spearmana dla zbadania zależności między zawartością procentową złogów a CD19 (receptorami dla limfocytów B) otrzymano istotną korelację ujemną, natomiast w przypadku korelacji Pearsona wynik nie wykazał istniejącej zależności między tymi parametrami. Można to próbować uzasadnić tym, iż testy parametryczne, do których należy również korelacja liniowa Pearsona, są bardziej dokładne, więc ich stosowanie jest wskazane, o ile spełnione są oczywiście wszystkie niezbędne warunki.

7.4 PODSUMOWANIE ANALIZY STATYSTYCZNEJ

Główym celem analizy statystycznej przeprowadzonej w ramach pracy magisterskiej było powiązanie parametrów złogów wyznaczonych metodą tomografii komputerowej: wielkości płatka, zawartości procentowej złogów wapiennych, ich średniego rozmiaru oraz udziału frakcji ciężkiej oraz największej grudki, z danymi klinicznymi otrzymanymi dzięki uprzejmości lekarzy ze Szpitala Jana Pawła II w Krakowie. Podczas badań skupiono się na danych demograficznych, wynikach badań morfologicznych, immunologicznych oraz echokardiograficznych, gdyż są one bezpośrednio powiązane z obrazem klinicznym choroby, jaką jest zwarcie zastawek aortalnych. Spodziewano się istotnych zależności, dzięki którym będzie można lepiej poznać etiologię kalcyfikacji, aby w przyszłości móc wdrożyć w życie skuteczne działania profilaktyczne.

Analiza wartości współczynnika korelacji rang Spearmana okazała się niezbyt owocna. Otrzymane korelacje nie były silne, więc wysnucie konkretnych wniosków dających zadowalające, istotne spostrzeżenia w dziedzinie diagnostyki wad zastawkowych nie było możliwe. Uzyskane wyniki pozwoliły jednak na sformułowanie kilku hipotez, które mogłyby stać się tematem dalszych badań

Kalcyfikacja jest procesem długotrwałym, który przez wiele lat nie wykazuje żadnych objawów, co potwierdza średni wiek pacjentów wynoszący 64 lata. Jednymi z przyczyn odkładania się złogów wapiennych w płatkach półksięcowatych oraz naczyniach krwionośnych są niewątpliwie zaburzenia w gospodarce lipidowej (dyslipidemia, na którą cierpią 78.57% badanych wykazała ujemną korelację na poziomie $\rho = -0.314$ z zawartością procentową ciężkiej frakcji złogów, czy też podwyższony poziom cholesterolu u 75% osób, w tym głównie kobiet) prowadzące do otyłości (określonej na podstawie wskaźnika BMI korelującego dodatnio z zawartością procentową grudek wapiennych w zastawce), problemy z nerkami (ok. 12% badanych), czy też nadciśnienie tętnicze. Wbrew przewidywaniom opartym na literaturze nie wykryto wpływu palenia papierosów oraz cukrzycy na rozwój schorzenia.

Niedawno odkryto, że odkładanie się złogów wapiennych w tkance miękkiej ma charakter aktywny i angażuje układ immunologiczny. Towarzyszący mu stan zapalny określony na podstawie obecności białka C-reaktywnego (CRP) zaobserwowano u ok. 22% pacjentów. Wyniki badań pokazały również podwyższony poziom receptorów dla limfo-

cytów T pomocniczych oraz obniżoną zawartość limfocytów cytoksycznych Tc. Może to świadczyć o postępujących infekcjach oraz chorobach autoimmunologicznych dotykających także stawy, przejawiających się ogólnym obniżeniem odporności. Dodatkowo parametry te wykazały ujemną korelację ze średnim rozmiarem grudki oraz jej pofałdowaniem, dzięki czemu można doszukać się tu powiązania z kalcyfikacją. Analiza wyników pokazała także, że proces wapnienia powoduje groźne upośledzenie układu odpornościowego poprzez zależność między zawartością grudek oraz ich najczęstszej frakcji w płatku półksiężycowatym a obecnością komórek NKT w krwi żylnej.

Dane literaturowe sugerowały, iż najistotniejszych powiązań będzie się można spodziewać w przypadku wyników badań echokardiograficznych, które bezpośrednio opisują pracę serca, silnie uzależnioną od prawidłowego funkcjonowania zastawek, w tym aortlanych. Rzeczywistość pokazała jednak mniej optymistyczny dla badań obraz. Istotne statystycznie koreacje istnieją jedynie między frakcją wyrzutową serca a rozmiarem grudki ($\rho = -0.301$) oraz maksymalnym gradientem przepływu krwi przez zastawkę a zawartością procentową frakcji ciężkiej w grudkach ($\rho = -0.309$) oraz objętością zastawki ($\rho = 0.360$). Pozwala to jednak na wysnucie ciekawych wniosków, iż odkładanie się soli wapiennych w złogach prowadzące do niedomykalności oraz zwężenia zastawki aortlanej powoduje zwiększenie obciążenia następczego lewej komory, a tym samym - niewydolność mięśnia sercowego.

Analiza statystyczna objęła również wyznaczenie współczynnika korelacji liniowej Pearsona (r) dla danych w skali liczbowej i o rozkładzie zbliżonym do normalnego. Uzyskane wyniki były w większości przypadków bardzo podobne do wartości wcześniej wyznaczonego współczynnika korelacji rang Spearmana, jednak pokazały również, że statystyka ta jest bardziej dokładna, dając istotną korelację między zawartością procentową złogów a CD19, której nie zaobserwowano wcześniej.

Podsumowując, analiza statystyczna danych pozwoliła na dokładniejsze zapoznanie się z obrazem klinicznym choroby oraz powiązanie go z parametrami złogów wyznaczonymi metodą tomografii komputerowej.

8 PODSUMOWANIE

Niniejsza praca magisterka, jak też wspomniano wcześniej, miała charakter eksperymentalny. Jej celem było sprawdzenie, na ile wprowadzenie analizy morfologicznej i topologicznej złogów zastawkowych może pomóc wyjaśnić mechanizmy ich powstawania. Jak się okazało, na obecnym etapie jest to możliwe w ograniczonym stopniu, jednak mimo to praca dostarczyła kilku ciekawych spostrzeżeń dotyczących diagnostyki chorób zastawkowych.

Podczas badań kontynuowano analizy przeprowadzane w ramach pracy inżynierskiej autorki. Wprowadzono również w życie kilka nowych pomysłów. Pierwszy z nich dotyczył analizy jakościowej złogów wapiennych widocznych na obrazach zastawek aortalnych wykonanych wysokorozdzielczą techniką mikrotomografii komputerowej. Dzięki autorskim, dedykowanym algorytmom przyjrzano się dokładniej rozkładowi gęstości w obrębie ziaren odkładających się w tkance miękkiej płatka półksiężycowatego oraz ich strukturze i kształtowi. Po części skorzystano także z opcji dostępnych w programie *Fiji*, którym posugiwano się w trakcie komputerowej obróbki zdjęć.

Wyniki przeprowadzanych badań potwierdziły hipotezy wysunute na bazie obserwacji wizualnych przekrojów przez płatki półksiężycowate. Zgromadzone tam złogi posiadały niejednorodny rozkład gęstości wynikający zapewne z różnego wysycenia solami wapnia, jednak średnia jasność dla wszystkich była w miarę zbliżona, co sugeruje, iż składały się z tego samego związku. Sytuację tę doskonale obrazują mapy cieplne sporządzone na podstawie danych otrzymanych w trakcie analizy jakościowej opartej na zbieraniu informacji o jasności pikseli w obrębie wylosowanego punktu centralnego w obszarze o zadanym przez użytkownika promieniu. Dla każdej badanej próbki w odległości ok. 0.3 mm od centrum wzrasta udział pikseli o wartości ok. 20, odpowiadającej tkance miękkiej, co dodatkowo sugeruje, że grudki posiadają niewielkie rozmiary.

Kolejnym krokiem zmierzającym ku dokładniejszej analizie jakościowej posiadanych obrazów mikrotomograficznych pod kątem występujących zwieńczeń zwapnień było oszacowanie ich struktury oraz kształtu. Dokonano tego w dość łatwy sposób, posługując się prostą operacją morfologiczną - erozją. Stworzony algorytm separował ziarna i w kolejnych iteracjach zmniejszał ich rozmiar za pomocą erozji. W wyniku tego grudki stopniowo

malały, niekiedy dzieląc się na kilka mniejszych obiektów. Ich liczba w kolejnych operacjach stała się źródłem cennych informacji na temat stopnia pofałdowania oraz skupienia ziaren. Przykładowo, złogi o zbitej strukturze i stosunkowo dużych rozmiarach są mniej podatne na podział, gdyż ich liczebność nie ulega znaczącym zmianom podczas kolejnych iteracji - zanikają sukcesywnie, stopniowo zmniejszając swoją objętość, bez oddzielania się nowych elementów. Krzywa zależności liczby zliczonych na binarnym obrazie elementów od ilości wykonanych erozji ma łagodny przebieg, w przeciwieństwie do niewielkich grudek o nierównomiernej powierzchni.

Po jakościowej ocenie zwapnień przystąpiono do opisu ilościowego. Większość istotnych parametrów, jak objętość, powierzchnię, zawartość procentową złogów oraz ich średni rozmiar wyznaczono w ramach pracy inżynierskiej, toteż odszukanie nowych, interesujących pod kątem etiologii kalcyfikacji zmiennych było dość trudnym zadaniem. Analizę ilościową oparto na zbadaniu udziału największego aglomeratu wapiennego, odseparowanego poprzez zastosowanie opcji *Purify* z wtyczki *BoneJ*, w ogóle zwapnień oraz tkance miękkiej płatka zastawki aortlanej. Dla większości próbek największa grudka stanowiła niemal całą objętość złogów (40-99%). Na podstawie uzyskanych wartości liczbowych oraz obserwacji obrazów mikrotomograficznych wysnuto hipotezę o tendencji grudek do kumulowania się w jednym fragmencie tkanki miękkiej w postaci dużych, lecz nie łączących się ze sobą w pełni aglomeratów. Być może jest to skutkiem zaburzeń metabolicznych towarzyszących procesowi kalcyfikacji objawiających się wahaniem poziomu wapnia i fosforu w surowicy krwi, angażującym jednocześnie układ immunologiczny oraz komórki ścian tętnic i osteoblasty do tworzenia skupisk wapiennych utrudniających prawidłowe funkcjonowanie zastawek aortlanych.

Niezwykle ważnym aspektem pracy magisterskiej, a zarazem jej głównym celem, była próba powiązania parametrów złogów wyznaczonych dzięki technice mikrotomografii komputerowej z danymi klinicznymi pacjentów, od których pochodziły próbki (danymi demograficznymi, wynikami badań morfologicznych, immunologicznych oraz echokardiograficznych). Nieodzownym, wręcz kluczowym elementem okazała się analiza statystyczna oparta na wyznaczaniu współczynników korelacji (rang Spearmana oraz liniowej Pearsona) między zmiennymi.

Średni wiek pacjentów, których poddano chirurgicznej wymianie zastawki aortlanej wynosił 64 lata i korelował ujemnie z objętością zastawki ($\rho = -0.359$). Wśród nich 53.3% stanowiły kobiety, a 47.7% - mężczyźni, zatem można stwierdzić, iż rozkład płci

był w miarę równy. Niemal połowa chorych zmagała się z problemem otyłości, ok. 75% miało związek z tym podwyższony poziom cholesterolu (głównie u płci żeńskiej, co może wynikać z nieco odmiennej gospodarki hormonalnej) wpływający niekorzystnie na gospodarkę lipidową, której zaburzenia, zgodnie z danymi literaturowymi, mogą stanowić jeden z czynników ryzyka odkładania się złogów wapiennych w obszarze płatków zastawek. Wielkością bezpośrednio z tym związaną i dość dobrze opisującą jest wskaźnik masy ciała - BMI, który wykazał zależność z zawartością procentową zwątpień opisaną współczynnikiem korelacji rang Spearmana równym 0.317.

Ponad 70% badanych cierpało na nadciśnienie tętnicze oraz dyslipidemię (ok. 80%), która wykazała ujemną korelację z zawartością frakcji ciężkiej w złogach ($\rho = -0.314$). Oba schorzenia były w większości przypadków wykryte i leczone - dyslipidemia statynami (78.89% pacjentów), a nadciśnienie tętnicze - inhibitorami konwertazy angiotensyny, β -blokerami (29.03%) lub połączeniem obu leków (45.16%), co mogło wpływać na wyniki korelacji z parametrami złogów wapiennych.

Na podstawie posiadanych, częściowo anonimizowanych danych demograficznych potwierdzono eksperymentalnie znane wcześniej spostrzeżenia dotyczące cukrzycy. Prawdopodobieństwo tego schorzenia rośnie z wiekiem ($\rho = 0.444$) i częściej cierpią na nią kobiety ($\rho = 0.326$). Dodatkowym czynnikiem ryzyka jest także zbyt wysoki wskaźnik BMI ($\rho = 0.447$).

Ze względu na fakt, iż kalcyfikacja jest procesem aktywnym, angażującym układ odpornościowy, któremu towarzyszą często stany zapalne, skupiono się także na wynikach badań morfologicznych oraz immunologicznych. U 22% badanych zaobserwowało obecność białka CRP w osoczu krwi - swoistego markera toczących się procesów zapalnych. Dodatkowo zauważono podwyższony poziom receptorów dla limfocytów T pomocniczych (Th) oraz spadek zawartości limfocytów cytoksyycznych Tc, co sugeruje obniżenie odporności. Korelują one dodatnio z pofałdowaniem płatka (odpowiednio $\rho = 0.324$ dla Th oraz $\rho = 0.411$ dla Tc). Spostrzeżenie to potwierdza również zależność między zawartością grudek oraz ich najcięższej frakcji w płatku półksiężycowatym a obecnością komórek NKT w krwi żylnej ($\rho = -0.311$).

Duże nadzieje na odnalezienie zależności między obrazem klinicznym choroby a parametrami opisującymi złogi wapienne wiążano z wynikami badań echokardiograficznych, gdyż to one bezpośrednio opisują pracę serca, na którą dość istotnie wpływa

prawidłowe funkcjonowanie zastawek. Wyniki analizy statystycznej opartej na wyznaczaniu współczynnika korelacji rang Spearmana (oraz liniowej Pearsona, jeśli było to możliwe) pokazały istotne powiązania jedynie między frakcją wyrzutową serca a rozmiarem grudki ($\rho = -0.301$) oraz maksymalnym gradientem przepływu krwi przez zastawkę a zawartością procentową frakcji ciężkiej w grudkach ($\rho = -0.309$) oraz objętością zastawki ($\rho = 0.360$). Przypuszcza się, iż może być to związane z niewydolnością lewej komory serca, która nie jest w stanie skutecznie poradzić sobie z działającym na nią obciążeniem wywołanym zbyt dużym ciśnieniem przepływającym przez nią krwi.

Mimo mało owocnych (wbrew dużym oczekiwaniom) wyników statystycznej analizy korelacji między analizowanymi zmiennymi odnaleziono kilka ciekawych powiązań, które pozwoliły na wysnucie hipotez dotyczących procesu kalcyfikacji oraz obrazu klinicznego choroby pacjenta. Nie są one wystarczające do wdrożenia konkretnych działań profilaktycznych mających na celu wcześniejsze rozpoznanie wad zastawkowych, lecz z pewnością mogą rzucić dodatkowe światło na zagadnienie diagnostyki oraz etiologii chorób zastawkowych, a ponadto potwierdzają w dużej mierze znane wcześniej wnioski dotyczące kalcyfikacji. Osiagnięciem pracy, mogącym znaleźć zastosowanie również w innych dziedzinach badań – niekoniecznie biomedycznych – jest zaproponowana metodologia badania zwartości i pofałdowania grudek dowolnego materiału.

9 DODATEK A - ZESTAWIENIE SZCZEGÓLOWYCH DANYCH LICZBOWYCH DOTYCZĄCYCH ZASTAWEK AORTALNYCH

Tabela 9.1. Zestawienie wartości progów binaryzacji dla wszystkich zastawek.

Seria pomiarowa	Zastawka	Obrany próg jasności
1	TEST	72
	Z12	40
	Z13	84
	Z14	77
	Z15	79
	Z16	88
	Z17	73
	Z18	82
	Z19	236
	Z20	80
2	Z21	82
	Z22	79
	Z23	78
	Z24	74
	Z25	73
	Z26	50
	Z27	81
	Z28	50
	Z29	54
	Z30	74
	Z31	78
	Z32	74
	Z33	86
	Z36	72
	Z37	81
	Z38	72
	Z39	81
	Z40	38
3	Z41	80
	Z42	63
	Z43	77
	Z44	88
	Z46	73
	Z47	76
4	Z49	82
	Z50	72
	Z52	86
	Z53	82

Z54	77
Z55	90
Z56	99
Z57	64
Z58	89
Z59	70
Z60	85
Z61	76

Tabela 9.2. Parametry statystyczne wyznaczone dla złogów wapiennych zastawek z IV serii pomiarowej, wyznaczone na podstawie liczby punktów o danej gęstości dla poszczególnych wartości poziomów szarości.

Zastawka	Dolny kwartył	Maksymalna wartość progu z histogramu	Minimalna wartość progu z histogramu	Górny kwartył	Medianą	Maksimum piku	Różstęp kwartylny
Z49	124	254	82	186	153	148	62
Z50	103	255	72	156	130	135	53
Z52	116	255	86	155	135	132	39
Z53	104	255	82	154	127	101	50
Z54	109	254	77	171	140	148	62
Z55	145	254	90	197	173	180	52
Z56	145	254	99	191	169	173	46
Z57	133	254	64	200	173	182	67
Z58	123	254	89	182	152	148	59
Z59	124	255	70	181	154	160	57
Z60	128	255	85	178	157	165	50
Z61	107	255	76	154	131	133	47

Tabela 9.3. Parametry statystyczne wyznaczone dla złogów wapiennych zastawek z IV serii pomiarowej, wyznaczone na podstawie liczby punktów o danej jasności

Zastawka	Dolny kwartyl	Maksymalna wartość progu z histogramu	Minimalna wartość progu z histogramu	Górny kwartyl	Mediana	Maksimum piku	Różstęp kwartylny
Z49	25	81	1	31	28	28	6
Z50	14	71	3	39	24	22	25
Z52	16	85	2	37	25	21	21
Z53	19	81	1	29	22	21	10
Z54	17	76	1	22	19	19	5
Z55	19	89	1	24	21	22	5
Z56	16	98	2	37	23	19	21
Z57	19	63	1	22	21	21	3
Z58	17	88	1	30	21	20	13
Z59	16	69	1	22	20	20	8
Z60	16	84	1	29	22	24	13
Z61	16	75	1	30	21	20	14

Tabela 9.4. Wyniki otrzymane dla złogów wapiennych podczas analizy ilościowej płatków półksiężycowatych z IV serii pomiarowej

Zastawka	Próg dla całej zastawki	Objętość zastawki [mm ³]	Powierzchnia zastawki [mm ²]	Stopień pofałdowania zastawki [mm ⁻¹]	Objętość złogów [mm ³]	Powierzchnia złogów [mm ²]	Zawartość złogów [%]	Stopień pofałdowania złogów [mm ⁻¹]	Objętość frakcji ciężkiej [mm ³]	Powierzchnia frakcji ciężkiej [mm ²]	Stopień pofałdowania frakcji ciężkiej [mm ⁻¹]	Średni rozmiar grudki [mm]	Odchylenie standardowe grudki [mm]
Z49	7	279.69	657.27	2.35	34.44	157.67	12.31	4.58	8.58	116.02	13.52	0.58	0.28
Z50	12	1520.28	2253.68	1.48	585.81	2781.26	38.53	4.75	40.20	468.98	11.67	0.63	0.35
Z52	8	2143.84	2651.39	1.24	677.26	4504.79	31.59	6.65	49.98	714.08	14.29		
Z53	1	810.32	758.26	0.94	153.79	859.09	18.98	5.59	10.92	168.38	15.42	0.55	0.32
Z54	8	1507.91	1255.22	0.83	147.50	840.12	9.78	5.70	23.57	337.41	14.32	0.55	0.31
Z55	6	498.93	651.52	1.31	56.99	303.63	11.42	5.33	19.34	230.07	11.90	0.70	0.41
Z56	2	577.58	830.06	1.44	178.16	904.79	30.85	5.08	49.63	638.85	12.87	0.63	0.31
Z57	1	1903.22	1478.48	0.78	55.34	369.09	2.91	6.67	19.65	207.98	10.58	0.51	0.26
Z58	8	673.93	885.49	1.32	145.33	1200.45	21.56	8.23	30.46	369.48	12.13	0.40	0.25
Z59	5	876.78	1454.08	1.66	153.76	751.03	17.54	4.88	28.72	428.74	14.93	0.60	0.31
Z60	9	700.26	1149.99	1.64	176.31	1102.72	25.18	6.25	26.87	423.64	15.77	0.47	0.25
Z61	5	4122.65	3460.84	0.84	1022.35	1993.45	24.80	1.95	63.67	569.10	8.94		

Tabela 9.5. Zawartość procentowa złogów w każdej grupie zastawek

Grupa	Liczebność grupy, N	Średnia	Minimum	Maksimum	Odchylenie standardowe
1	7	8.83	0.44	14.80	4.75
2	24	22.72	2.91	43.76	9.76
3	5	22.25	9.78	40.65	13.22

Tabela 9.6. Zawartość procentowa frakcji ciężkiej złogów w każdej grupie zastawek

Grupa	Liczebność grupy, N	Średnia	Minimum	Maksimum	Odchylenie standardowe
1	7	29.93	9.82	43.74	11.97
2	24	13.28	1.50	39.88	10.26
3	5	19.82	9.22	33.94	10.62

Tabela 9.7. Średni rozmiar grudki w każdej grupie zastawek

Grupa	Liczebność grupy, N	Średnia	Minimum	Maksimum	Odchylenie standardowe
1	7	0.626	0.360	0.760	0.137
2	24	0.526	0.350	0.720	0.097
3	5	0.732	0.550	1.060	0.195

Tabela 9.8. Pofałdowanie zastawek w każdej grupie

Grupa	Liczebność grupy, N	Średnia	Minimum	Maksimum	Odchylenie standardowe
1	7	5,04	3.77	8.46	1.54
2	24	6.02	3.73	11.82	1.75
3	5	4.62	2.45	5.70	1.28

Tabela 9.9. Objętość zastawki w każdej grupie

Grupa	Liczebność grupy, N	Średnia	Minimum	Maksimum	Odchylenie standardowe
1	7	447.77	243.27	723.25	189.70
2	24	1116.71	407.10	2416.30	552.85
3	5	898.79	498.93	1507.91	409.53

Tabela 9.10. Wybrane wartości liczbowe opisujące zastawki aortalne, wyznaczone na podstawie obrazów mikrotomograficznych po zastosowaniu opcji *Purify*

Zastawka	Objętość zastawki [mm ³]	Objętość złogów [mm ³]	Objętość największego złogu [mm ³]	Powierzchnia zastawki [mm ²]	Powierzchnia złogów [mm ²]	Powierzchnia największego złogu [mm ²]	Zawartość procentowa złogów w zastawce [%]	Zawartość procentowa największej grudki w złogach [%]	Zawartość procentowa największej grudki w zastawce [%]
TEST	1010.22	168.32	130.022	1260.63	842.02	631.513	16.66	77.25	12.87
Z12	556.65	95.3	70.748	807.43	509	348.573	17.12	74.24	12.71
Z13	1062.11	295.19	275.295	1175.59	2105.47	1897.804	27.79	93.26	25.92
Z14	823.94	57.6	55.753	1288.78	261.06	241.529	6.99	96.79	6.77
Z15	491.07	91.58	91.334	843.16	477.17	460.002	18.65	99.73	18.60
Z16	1365.16	454.21	450.916	1582.7	1692.45	1532.56	33.27	99.27	33.03
Z17	762.19	203.16	155.721	912.38	1112.05	828.728	26.65	76.65	20.43
Z18	1461.97	407.97	404.061	1449.27	2322.53	2231.642	27.91	99.04	27.64
Z20	311.3	36.34	36.275	518.57	161.27	158.351	11.67	99.82	11.65
Z21	1259.11	446.69	412.563	1831.78	2009.85	1710.105	35.48	92.36	32.77
Z22	707.41	179.14	139.372	1047.66	1142.37	730.223	25.32	77.80	19.70
Z23	418.56	82.48	75.139	698.11	555	543.987	19.71	91.10	17.95
Z24	1214.54	240.44	106.026	1648.29	1220.67	511.138	19.80	44.10	8.73
Z25	1028.23	290.11	205.984	1478.83	1729.66	1143.258	28.21	71.00	20.03
Z26	580.08	52.88	50.305	980.4	247.02	220.25	9.12	95.13	8.67
Z27	606.63	80.68	66.009	875.06	410.96	284.453	13.30	81.82	10.88
Z28	407.1	15.11	9.452	627.32	127.72	71.328	3.71	62.55	2.32
Z29	243.27	15.73	8.987	507.06	74.73	43.493	6.47	57.13	3.69
Z30	618.18	91.5	91.874	901.39	345.32	328.135	14.80	95.02	14.86
Z31	2416.3	445.14	320.682	2330.7	2530.76	1661.021	18.42	72.04	13.27
Z32	1726.88	266.46	204.736	1382.91	1298.15	777.389	15.43	76.84	11.86
Z33	591.33	87.07	81.678	924.85	1028.79	930.7	14.72	93.81	13.81
Z36	1490.41	415.55	411.33	1680.99	2169.83	2078.853	27.88	98.98	27.60

Z37	1031.45	173.77	105.234	1341.95	858.62	515.493	16.85	60.56	10.20
Z38	334.31	49.5	47.263	642.39	332.8	308.68	14.81	95.48	14.14
Z39	642.48	157.27	153.116	939.64	1110.82	1044.136	24.48	97.36	23.83
Z40	378.6	1.68	1.659	524.31	124.19	43.876	0.44	98.75	0.44
Z41	723.25	50.83	49.613	602.95	235.69	220.797	7.03	97.61	6.86
Z42	1568.04	686.24	653.862	1987.12	2575.32	2312.525	43.76	95.28	41.70
Z43	356.71	39.22	15.862	569.35	226.45	75.101	10.99	40.44	4.45
Z44	1078.26	438.31	440.381	1171.27	1074.07	1005.966	40.65	93.66	40.84
Z46	686.64	117.28	61.963	907.15	565.66	310.157	17.08	52.83	9.02
Z47	831.26	154.16	147.843	917.48	698.35	610.337	18.55	95.90	17.79
Z49	279.69	34.44	36.505	657.17	157.67	148.179	12.31	93.98	13.05
Z50	1520.28	585.81	537.01	2253.68	2781.26	2478.159	38.53	91.67	35.32
Z52	2143.84	677.26	738.114	2651.39	4504.79	4242.39	31.59	94.18	34.43
Z53	810.31	153.79	180.819	758.26	859.09	722.323	18.98	84.08	22.31
Z54	1507.91	147.5	110.698	1255.22	840.11	578.663	9.78	75.05	7.34
Z55	498.93	56.99	45.866	651.52	303.63	210.075	11.42	80.48	9.19
Z56	577.58	178.16	201.715	830.06	904.79	852.343	30.85	94.20	34.92
Z57	1903.22	55.34	24.982	1478.48	369.09	171.06	2.91	45.14	1.31
Z58	673.93	145.33	147.284	885.49	1200.45	1158.959	21.56	96.54	21.85
Z59	876.78	153.76	70.39	1454.08	751.03	308.291	17.54	45.78	8.03
Z60	700.26	176.31	191.305	1149.99	1102.72	997.766	25.18	90.48	27.32
Z61	4122.65	1022.35	998.175	3460.84	1993.45	3572.175	24.80	97.64	24.21

Tabela 9.11. Współczynnik korelacji rang Spearmana dla danych demograficznych oraz parametrów morfologicznych złogów (cz.1)

Parametry morfologiczne złogów	Wiek	Płeć	BAV	BMI	Papier osy	Cukrzyca (DM)	Nadciśnienie tętnicze (HA)	Dyslipidemia
Zawartość procentowa złogów	-0,088	-0,009	0,170	0,218	-0,095	0,183	0,004	0,074
Średni rozmiar grudki	0,191	-0,170	-0,073	0,226	-0,294	-0,111	0,092	-0,050
Połudźwanie grudki	-0,001	0,168	-0,069	-0,297	0,240	0,039	0,019	0,134
Zawartość procentowa frakcji ciężkiej w grudkach	0,112	-0,016	-0,486	-0,217	0,157	-0,034	-0,213	-0,314
Objętość zastawki	-0,359	-0,317	0,517	0,132	0,068	-0,241	0,196	0,079
Zawartość procentowa największej grudki w złogach	-0,009	0,081	-0,042	0,168	-0,209	0,227	-0,285	-0,050

Tabela 9.12. Współczynnik korelacji rang Spearmana dla danych demograficznych oraz parametrów morfologicznych złogów (cz.2)

Parametry morfologiczne złogów	ASA	ACEI	Beta blokery	Ca blokery
Zawartość procentowa złogów	0	0,041	0,276	-0,010
Średni rozmiar grudki	-0,134	0,171	0,015	0,061
Połudźwanie grudki	0,208	-0,111	-0,048	0,058
Zawartość procentowa frakcji ciężkiej w grudkach	0,059	-0,233	-0,155	-0,223

Objętość zastawki	-0,055	0,015	0,092	0,213
Zawartość procentowa największej grudki w złogach	-0,079	-0,117	0,088	-0,122

Tabela 9.13. Współczynnik korelacji rang Spearmana dla wyników badań morfologicznych oraz parametrów morfologicznych złogów (cz.1)

Parametry morfologiczne złogów	Cholesterol	LDL	HDL	TGL	Bazofile	CRP
Zawartość procentowa złogów	0,064	0,066	-0,109	0,078	-0,169	0,119
Średni rozmiar grudki	-0,033	0,052	-0,028	-0,225	-0,106	-0,189
Połładowanie grudki	-0,030	-0,080	-0,032	0,188	0,093	0,275
Zawartość procentowa frakcji ciężkiej w grudkach	0,098	0,094	0,131	0,058	-0,021	0,076
Objętość zastawki	-0,067	-0,131	-0,061	-0,023	-0,346	-0,139
Zawartość procentowa największej grudki w złogach	0,120	0,214	-0,147	0,045	-0,131	0,064

Tabela 9.14. Współczynnik korelacji rang Spearmana dla wyników badań morfologicznych oraz parametrów morfologicznych złogów (cz.2)

Parametry morfologiczne złogów	Kreatynina	Mocznik	GFR	Na	K
Zawartość procentowa złogów	0,065	-0,042	0,023	0,095	0,033
Średni rozmiar grudki	0,281	0,202	-0,298	0,374	-0,051
Połładowanie grudki	-0,127	-0,074	0,114	-0,392	-0,006
Zawartość procentowa frakcji ciężkiej w grudkach	0,195	0,202	-0,210	0,160	0,196

Objętość zastawki	0,109	-0,103	0,225	0,078	-0,008
Zawartość procentowa największej grudki w złogach	-0,027	0,188	-0,071	0,033	0,009

Tabela 9.15. Współczynnik korelacji rang Spearmana dla wyników badań immunologicznych oraz parametrów morfologicznych złogów

Parametry morfologiczne złogów	Limfocyty T	Limfocyty Th	Limfocyty Tc	Limfocyty B	NK	NKT
Zawartość procentowa złogów	-0,272	-0,184	-0,227	-0,387	-0,136	0,174
Średni rozmiar grudki	-0,468	-0,341	-0,355	-0,079	0,061	-0,389
Pofałdowanie grudki	0,471	0,324	0,411	0,045	-0,039	0,363
Zawartość procentowa frakcji ciężkiej w grudkach	0,016	0,087	0,005	0,250	-0,100	-0,311
Objętość zastawki	-0,096	0,034	-0,116	-0,059	0,002	0,203
Zawartość procentowa największej grudki w złogach	-0,179	-0,065	-0,267	-0,166	-0,097	-0,080

Tabela 9.16. Współczynnik korelacji rang Spearmana dla wyników badań echokardiograficznych oraz parametrów morfologicznych złogów (cz.1)

Parametry morfologiczne złogów	Stopień zwąpnięcia	Frakcja wyrzutowa serca	Stiffness index	Aortic strain	Poszerzenie aorty
Zawartość procentowa złogów	0,192	-0,104	0,115	-0,244	-0,088
Średni rozmiar grudki	0,040	-0,301	-0,073	-0,004	0,090

Pofałdowanie grudki	-0,146	0,242	0,112	-0,041	-0,115
Zawartość procentowa frakcji ciężkiej w grudkach	-0,040	-0,107	-0,195	0,152	0,205
Objętość zastawki	0,025	0,065	-0,177	0,056	0,185
Zawartość procentowa największej grudki w złogach	0,189	-0,172813	0,029	-0,094	-0,006

Tabela 9.17. Współczynnik korelacji rang Spearmana dla wyników badań echokardiograficznych oraz parametrów morfologicznych złogów (cz.2)

Parametry morfologiczne złogów	V max	PG max	PG średni	AVA (powierzchnia ujścia aorty)
Zawartość procentowa złogów	0,281	0,264	0,252	-0,284
Średni rozmiar grudki	-0,101	-0,041	-0,062	0,028
Pofałdowanie grudki	0,027	-0,031	0,067	-0,044
Zawartość procentowa frakcji ciężkiej w grudkach	-0,276	-0,309	-0,237	0,191
Objętość zastawki	0,278	0,350	0,294	-0,148
Zawartość procentowa największej grudki w złogach	0,100	0,038	-0,010	-0,005

Tabela 9.18. Wyniki testu Shapiro-Wilka dla badanych zmiennych

Zmienna w skali liczbowej	Wynik testu Shapiro-Wilka, p (przy poziomie istotności 0.05)
Zawartość procentowa złogów	0.6650
Średni rozmiar grudki	0.0238
Stopień pofałdowania grudki	0.0013
Zawartość procentowa frakcji ciężkiej w grudkach	0.0273
Wiek	0.0280
Frakcja wyrzutowa serca	0.0000
V _{max}	0.0000
PG _{max}	0.2683
PG _{średni}	0.1589
AVA	0.1004
Stiffness index	0.0000
Rozwarstwienie aorty	0.0000
Poszerzenie aorty	0.0006
Cholesterol	0.3022
HDL	0.0760
LDL	0.0760
CRP	0.0000
Kreatynina	0.0031
Bazofile	0.0000
PCT	0.7121
Mocznik	0.0798
TGL	0.9863
CD3 Limf T	0.0012
CD4 Th	0.7748
CD8	0.0142
CD4/CD8	0.0000
CD19	0.0652
NK	0.0003
NKT	0.0001

Tabela 9.19. Korelacja między zawartością procentową złogów a danymi klinicznymi - Spearmana i Pearsona (cz.1)

	PG _{max}	PG _{mean}	AVA	Cholesterol	HDL	LDL
Współczynnik korelacji liniowej Pearsona (r)	0.273	0.179	-0.263	-0.008	-0.045	0.015
Współczynnik korelacji rang Spearmana (ρ)	0.264	0.252	-0.294	-0.064	-0.109	0.066

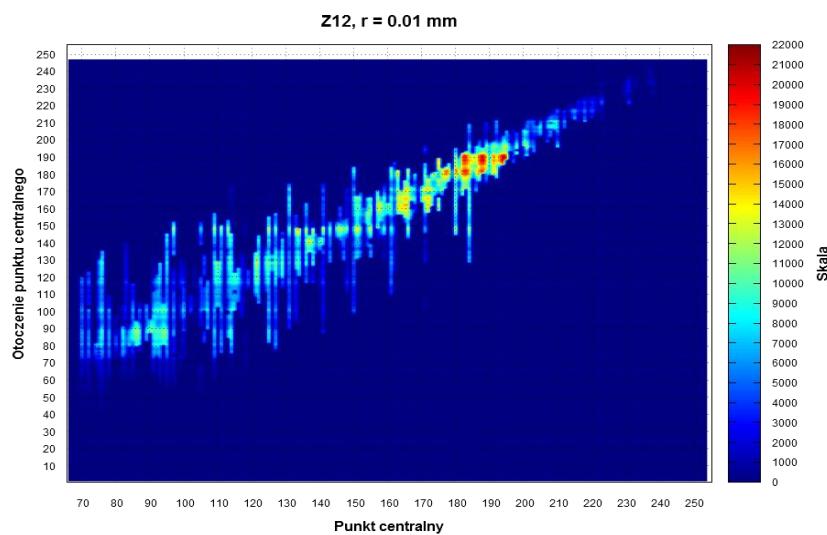
Tabela 9.20. Korelacja między zawartością procentową złogów a danymi klinicznymi - Spearmana i Pearsona (cz.2)

	PCT	mocznik	TGL	CD4	CD19
Współczynnik korelacji liniowej Pearsona (r)	-0.034	-0.018	0.015	-0.096	-0.115
Współczynnik korelacji rang Spearmana (ρ)	0.065	-0.042	0.023	-0.184	-0.387

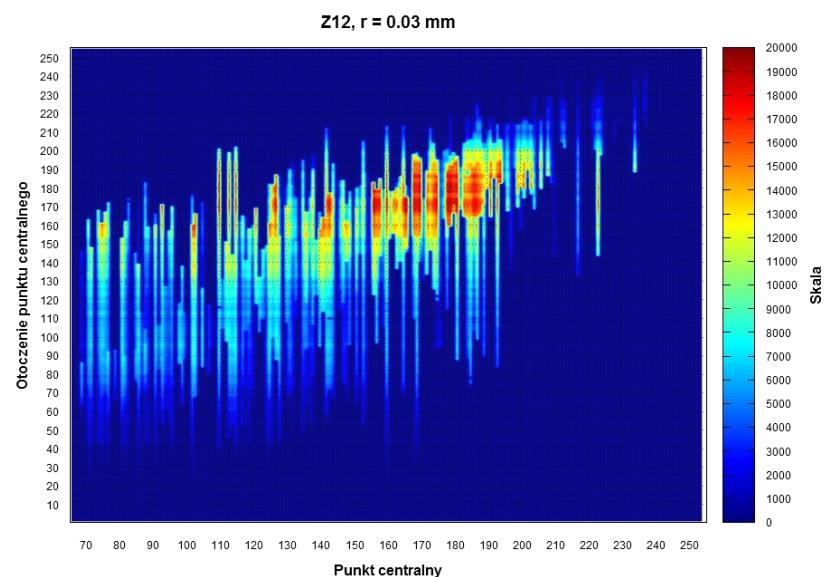
10 DODATEK B - WYKRESY

10.1 MAPY CIEPLNE

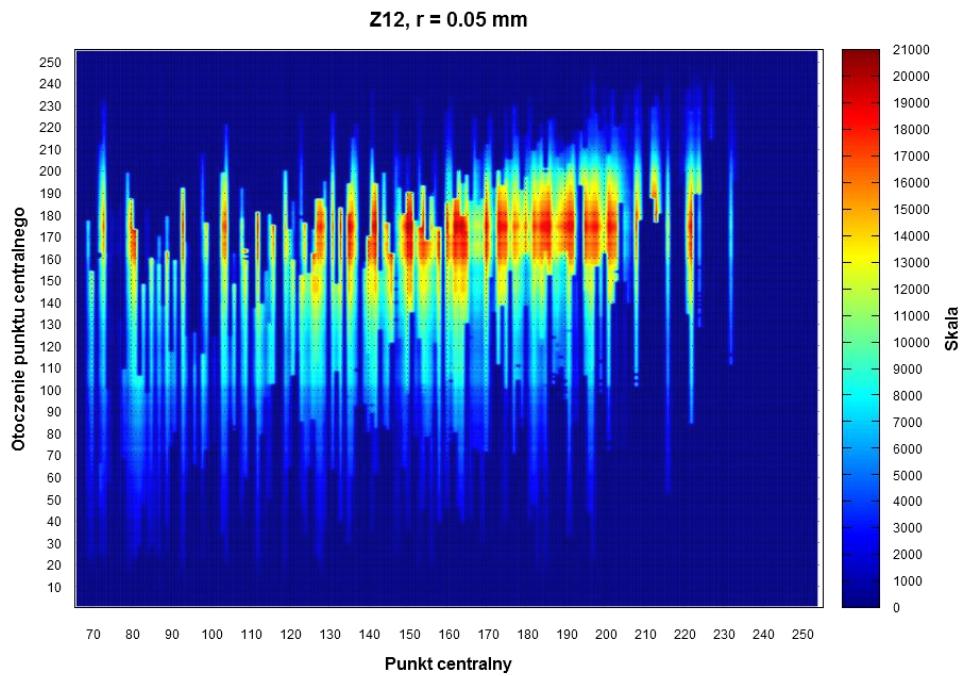
10.1.1 ZASTAWKA Z12



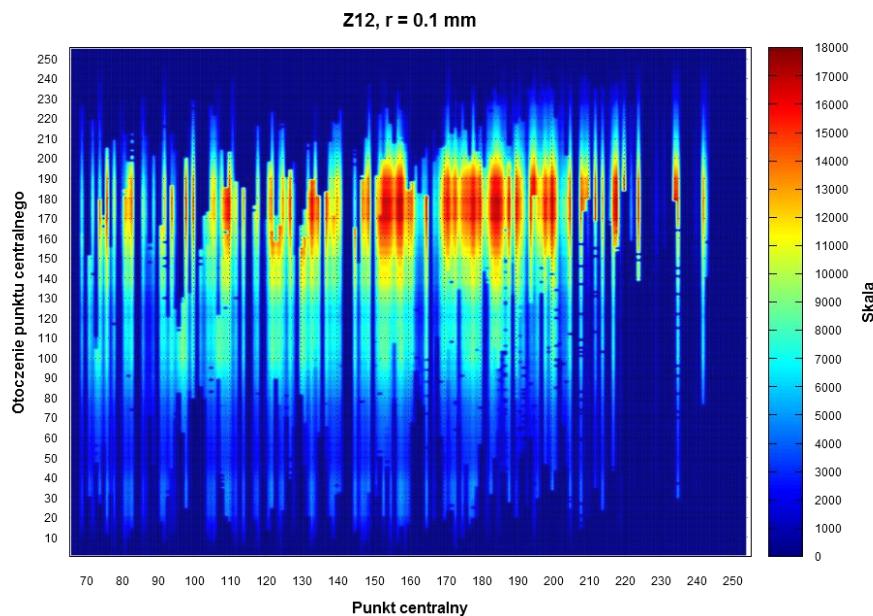
Wykres 10.1. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.01 mm dla zastawki Z12



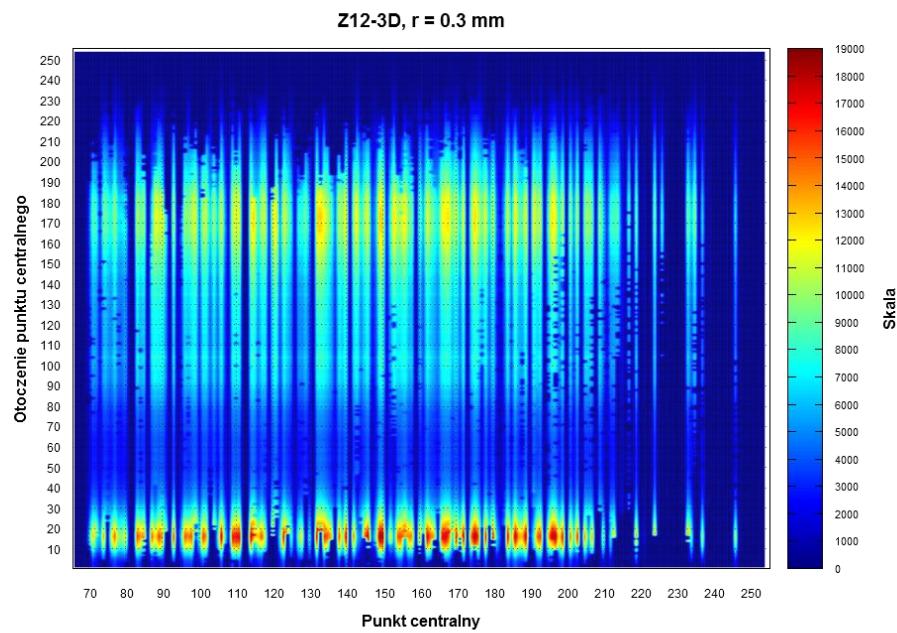
Wykres 10.2. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.03 mm dla zastawki Z12



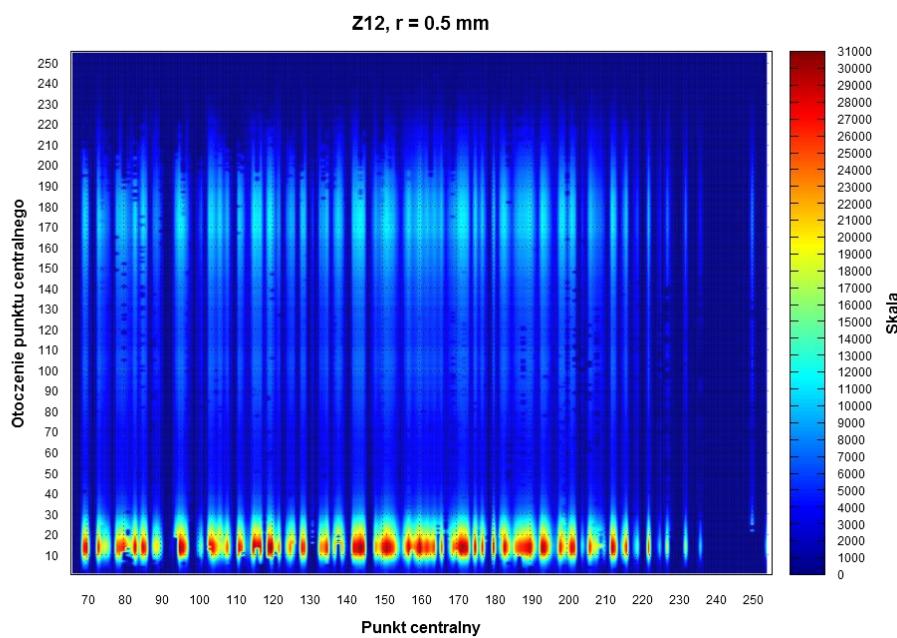
Wykres 10.3. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.05 mm dla zastawki Z12



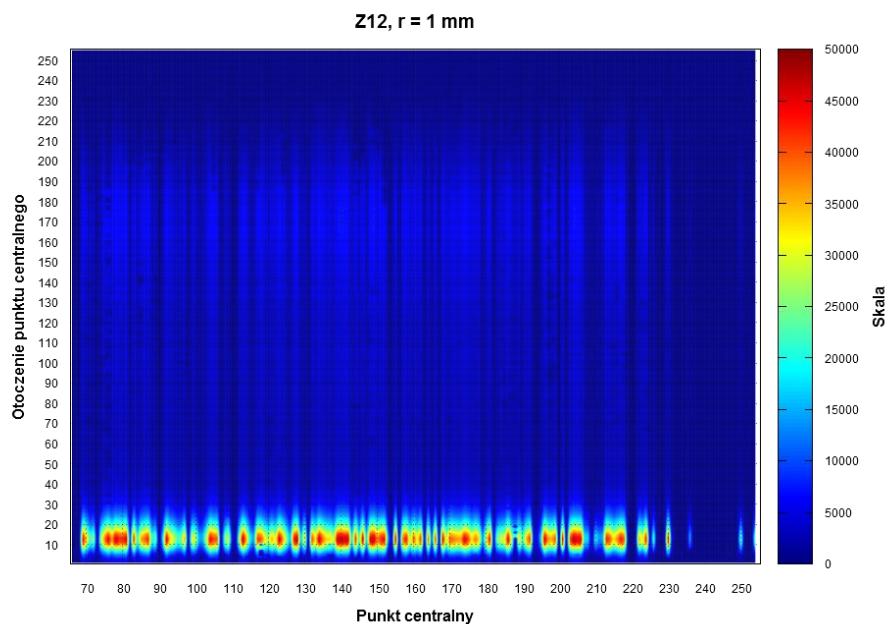
Wykres 10.4. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.1 mm dla zastawki Z12



Wykres 10.5. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.3 mm dla zastawki Z12

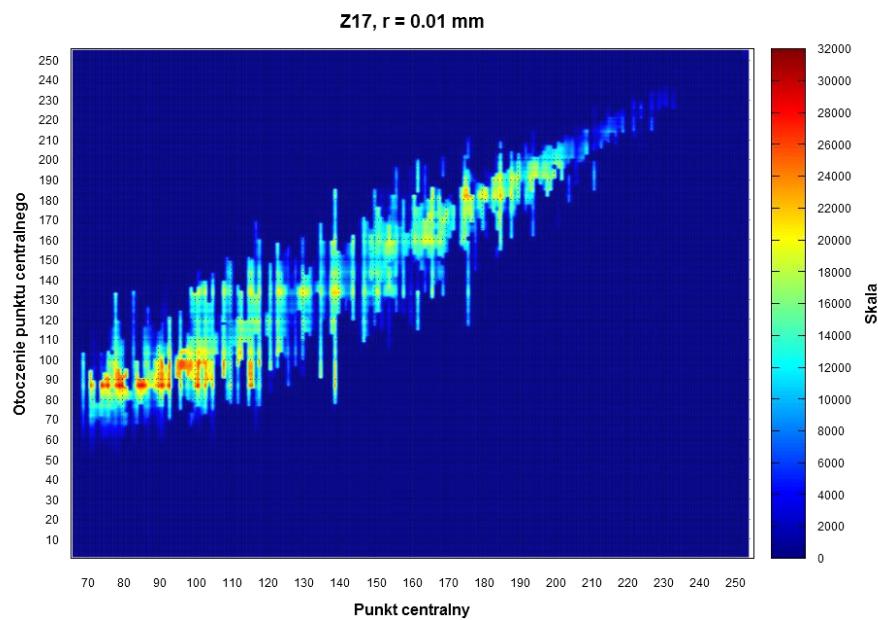


Wykres 10.6. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.5 mm dla zastawki Z12

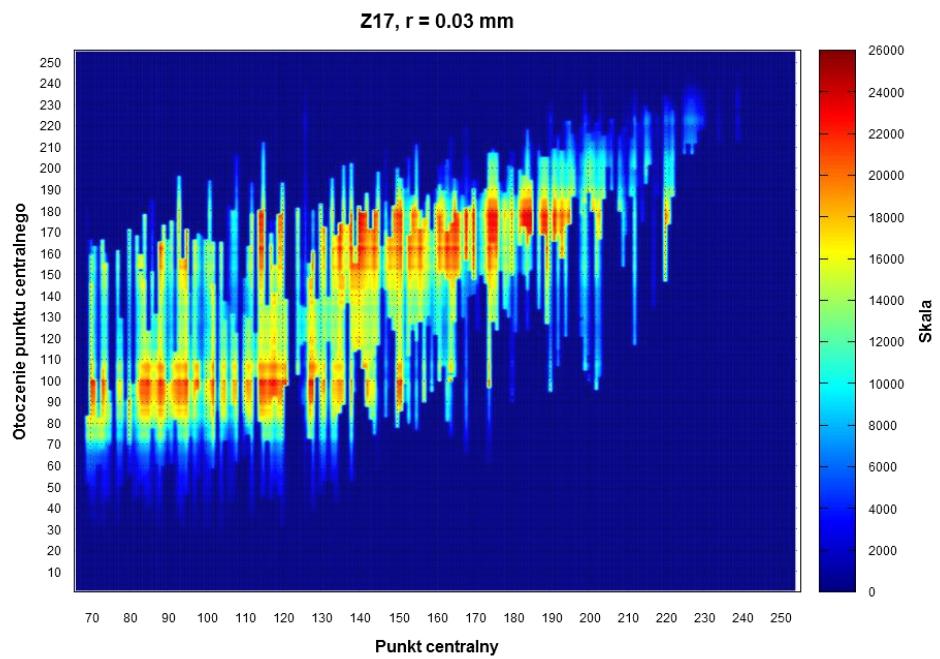


Wykres 10.7. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 1 mm dla zastawki Z12

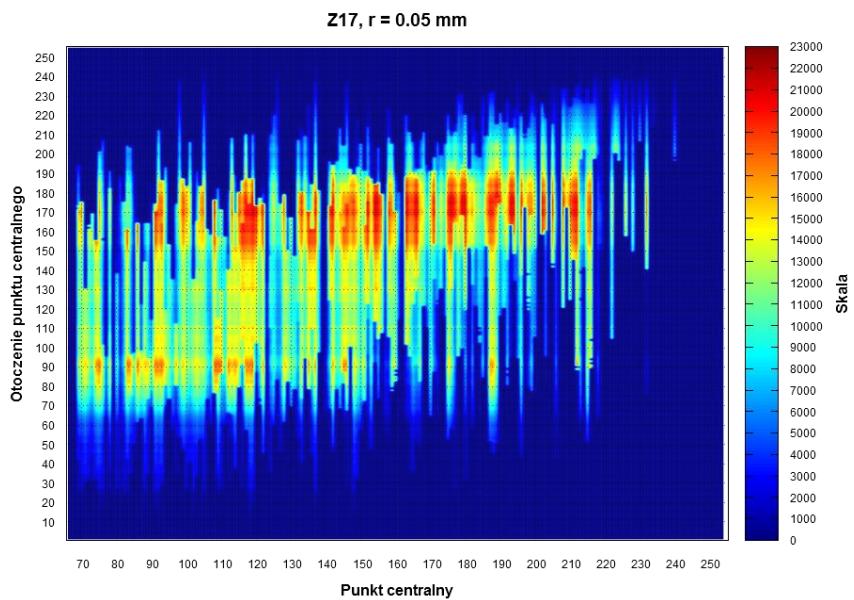
10.1.2 ZASTAWKA Z17



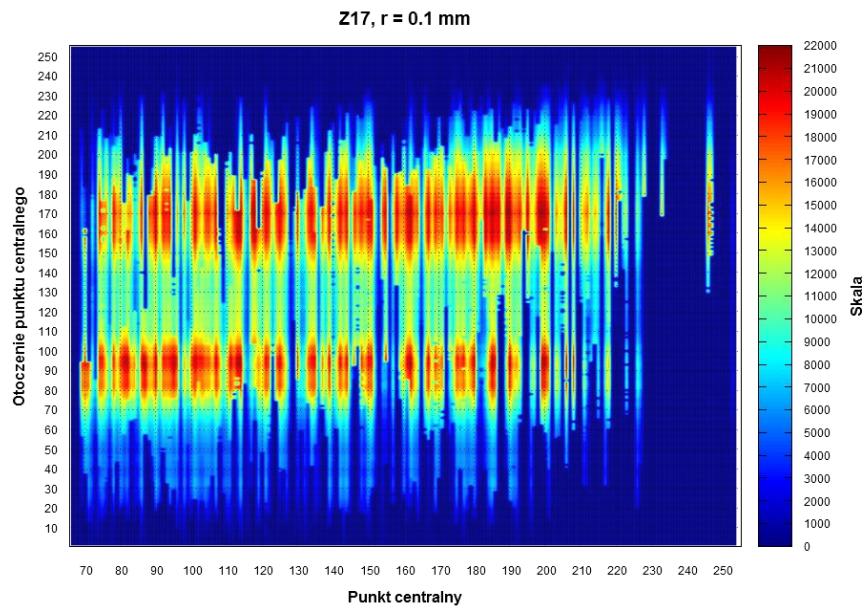
Wykres 10.8. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.01 mm dla zastawki Z17



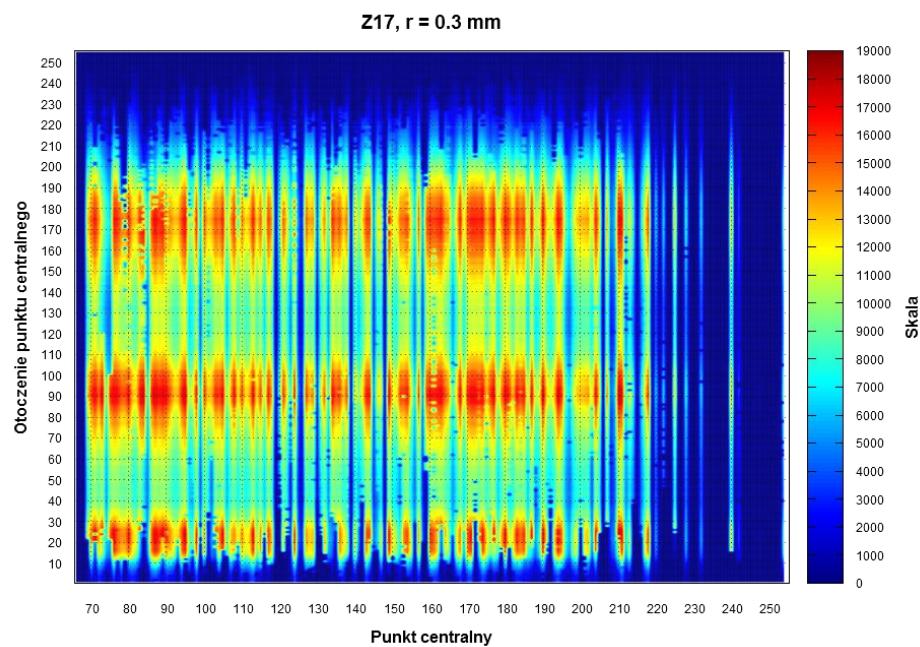
Wykres 10.9. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.03 mm dla zastawki Z17



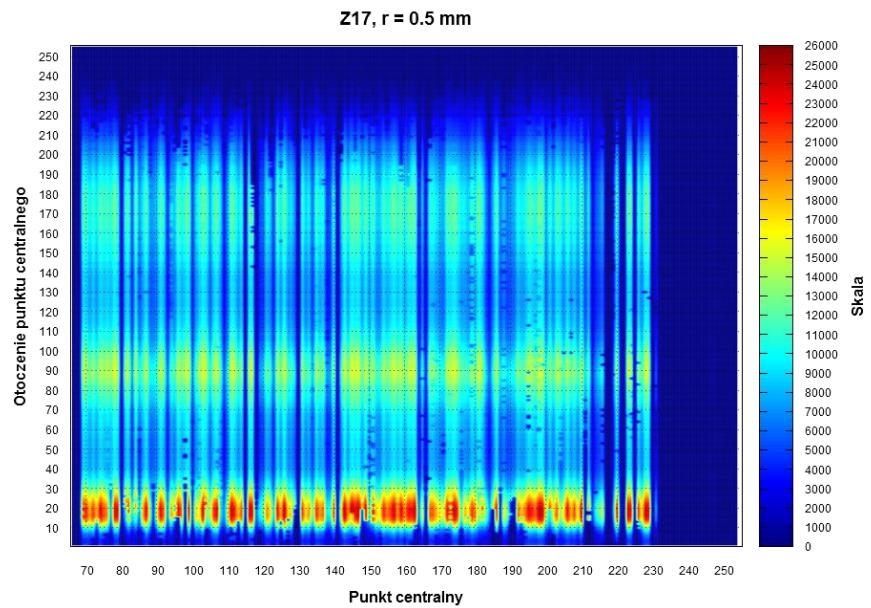
Wykres 10.10. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.05 mm dla zastawki Z17



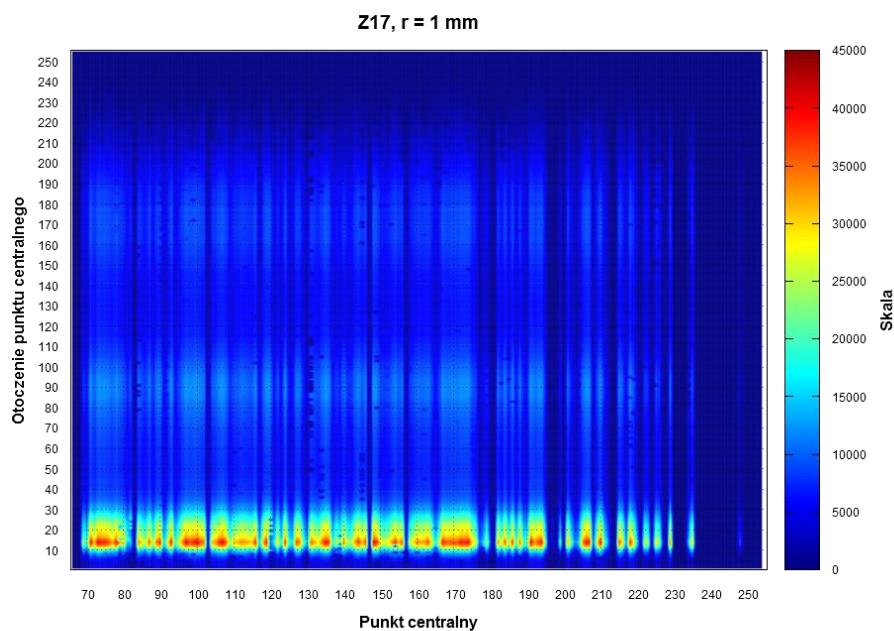
Wykres 10.11. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.1 mm dla zastawki Z17



Wykres 10.12. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.3 mm dla zastawki Z17

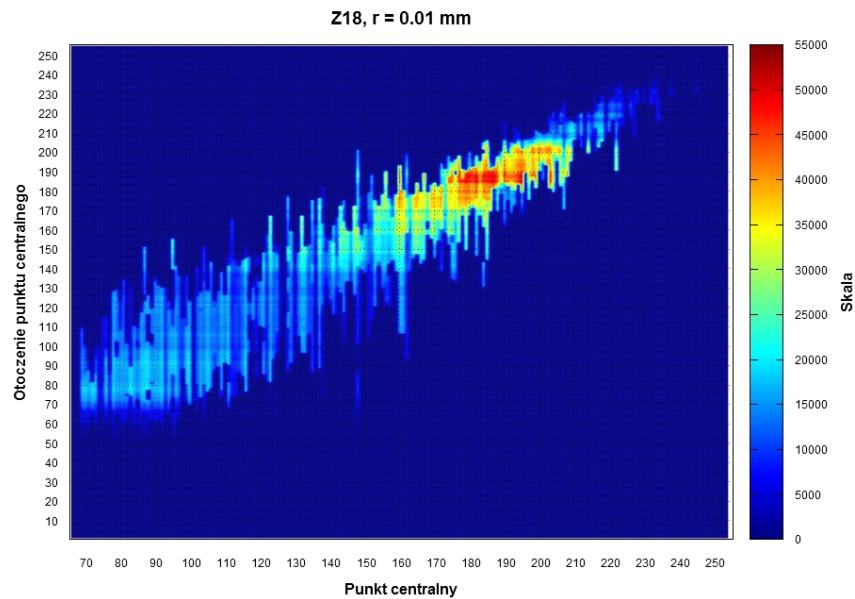


Wykres 10.13. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.5 mm dla zastawki Z17

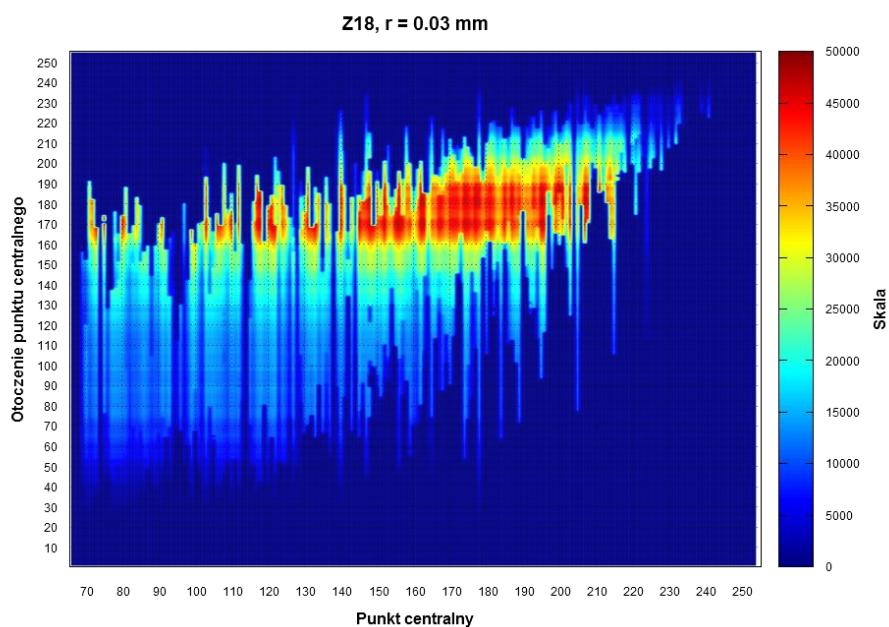


Wykres 10.14. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 1 mm dla zastawki Z17

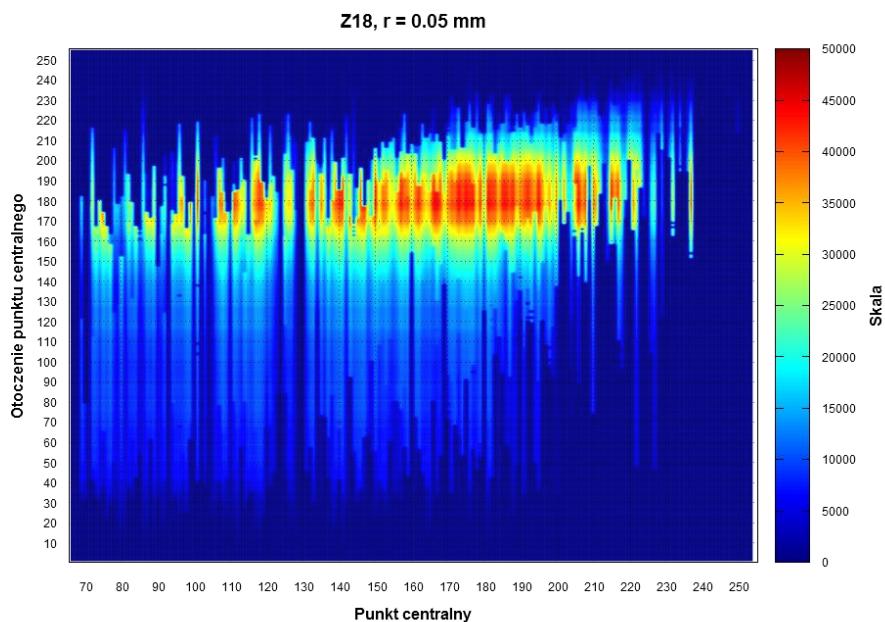
10.1.3 ZASTAWKA Z18



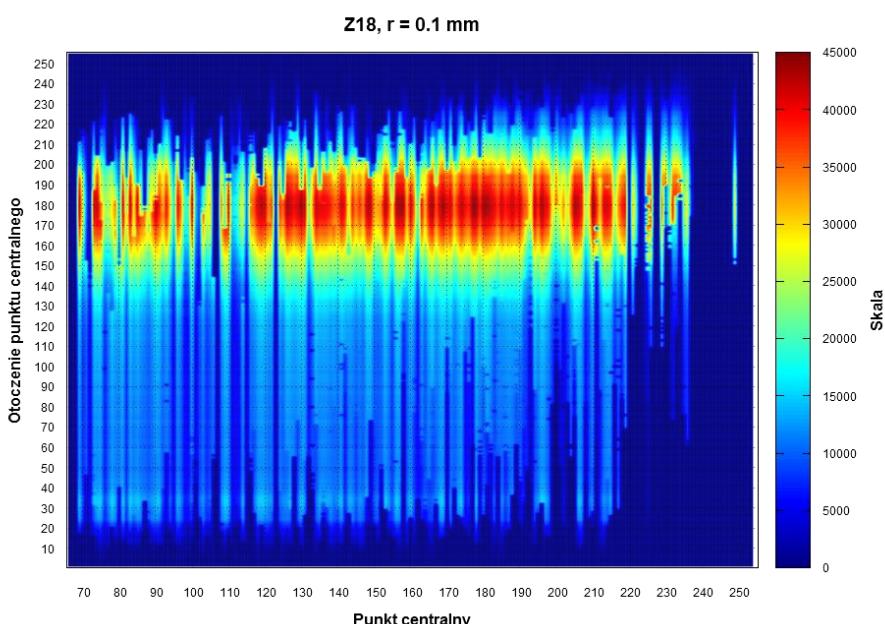
Wykres 10.15. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.01 mm dla zastawki Z18



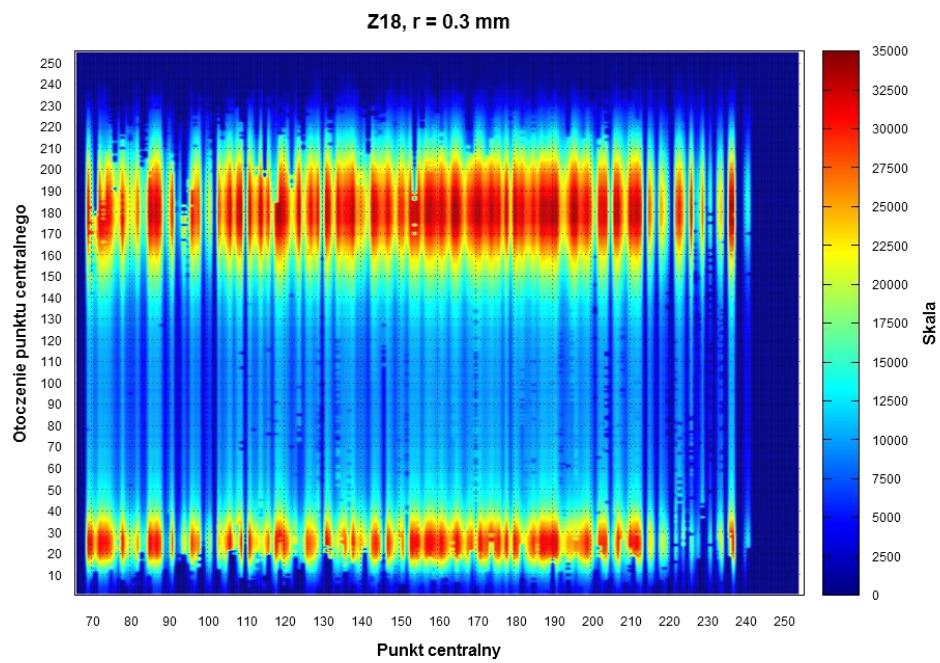
Wykres 10.16. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.03 mm dla zastawki Z18



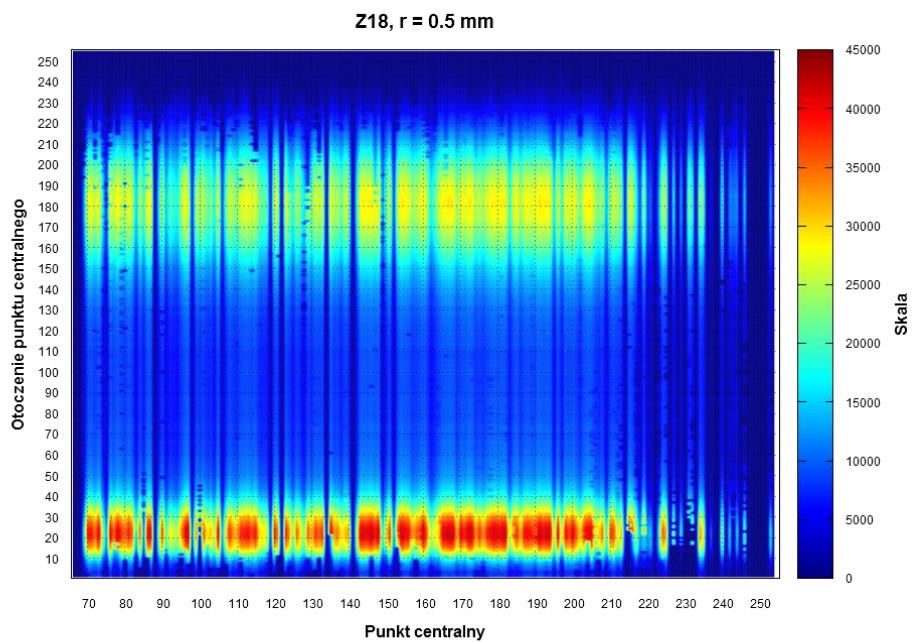
Wykres 10.17. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.05 mm dla zastawki Z18



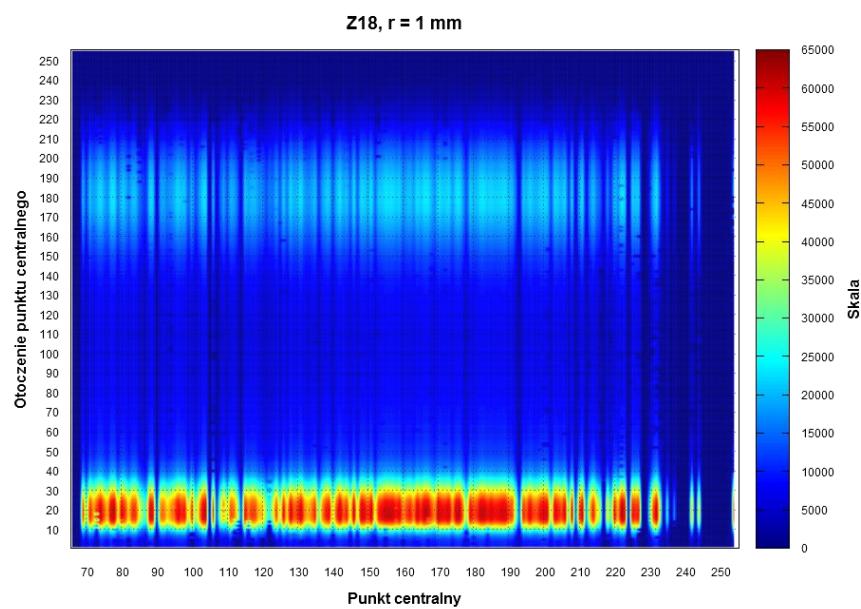
Wykres 10.18. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.1 mm dla zastawki Z18



Wykres 10.19. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.3 mm dla zastawki Z18

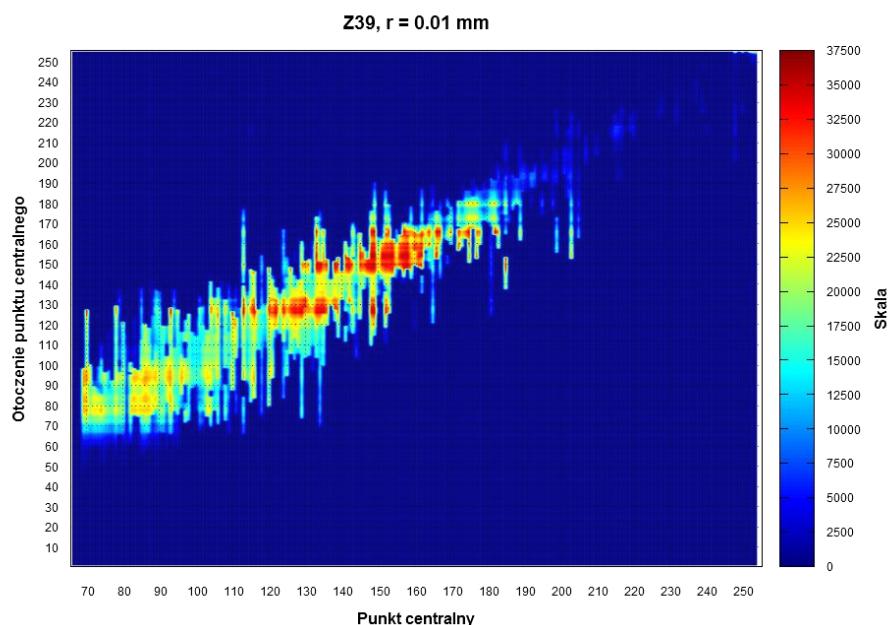


Wykres 10.20. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.5 mm dla zastawki Z18

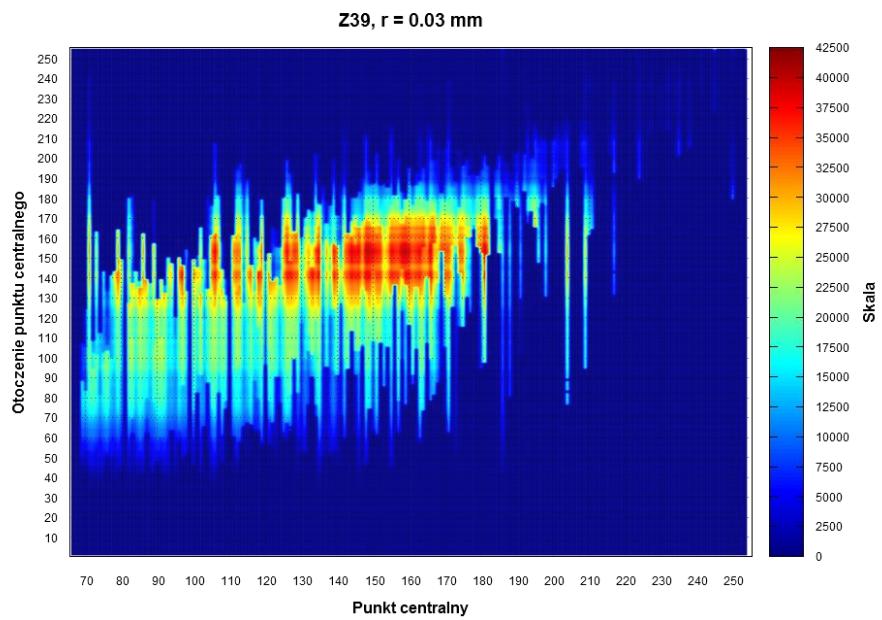


Wykres 10.21. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 1 mm dla zastawki Z18

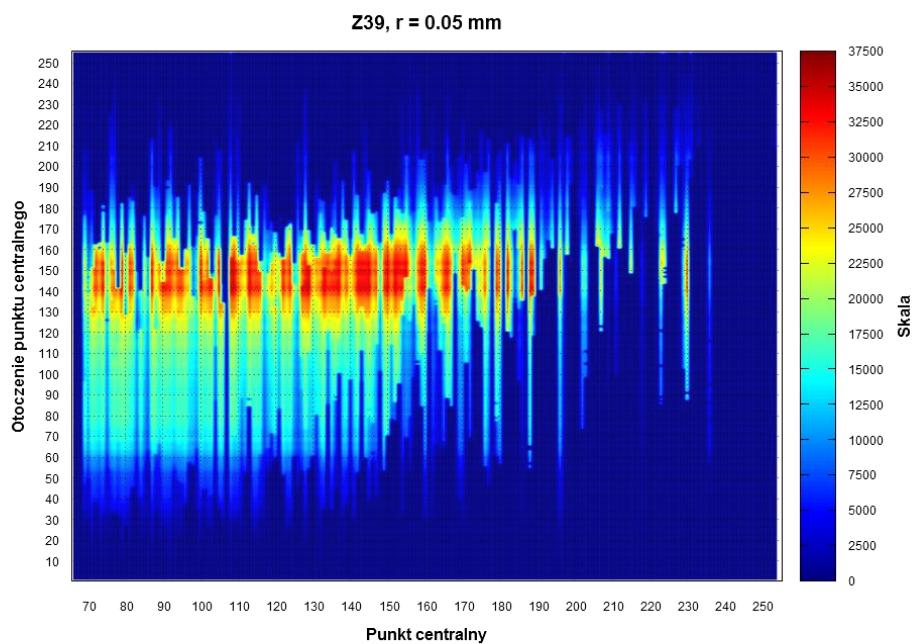
10.1.4 ZASTAWKA Z39



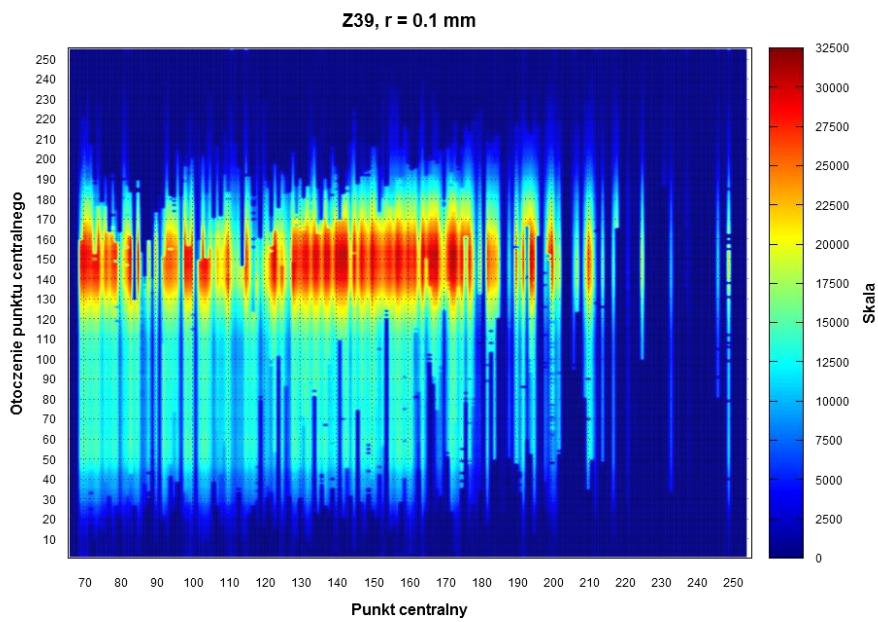
Wykres 10.22. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.01 mm dla zastawki Z39



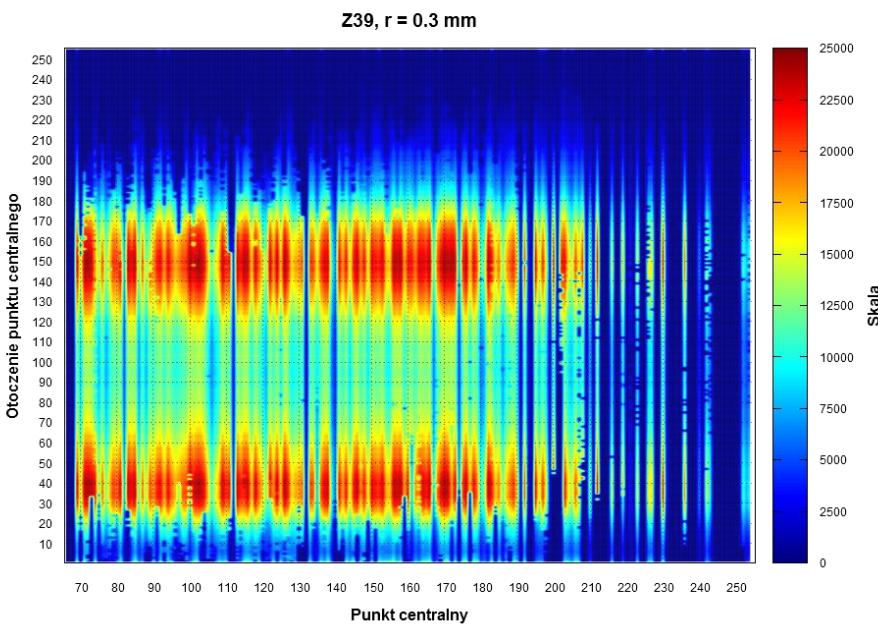
Wykres 10.23. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.03 mm dla zastawki Z39



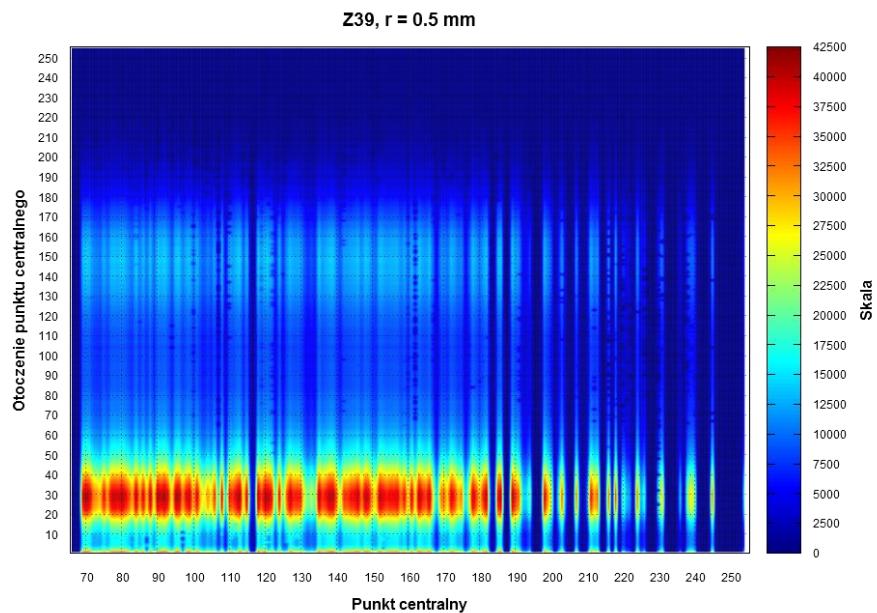
Wykres 10.24. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.05 mm dla zastawki Z39



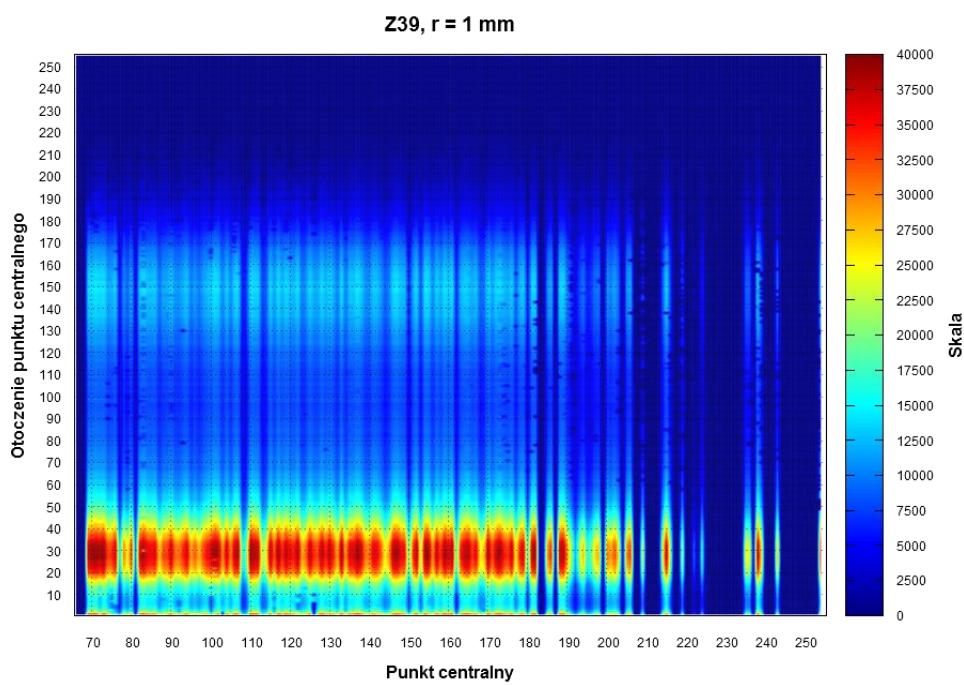
Wykres 10.25. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.1 mm dla zastawki Z39



Wykres 10.26. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.3 mm dla zastawki Z39



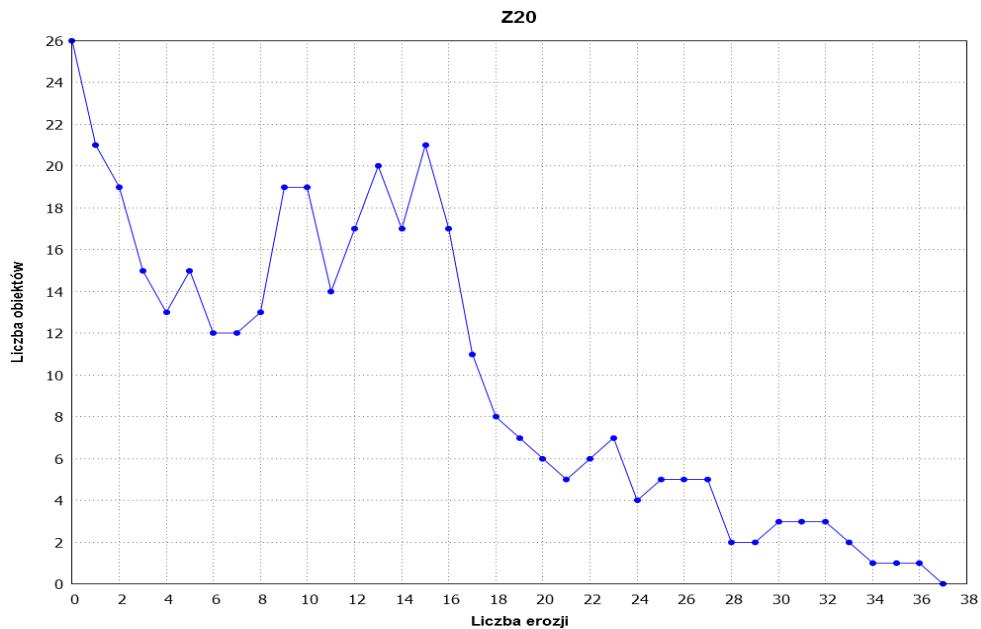
Wykres 10.27. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.5 mm dla zastawki Z39



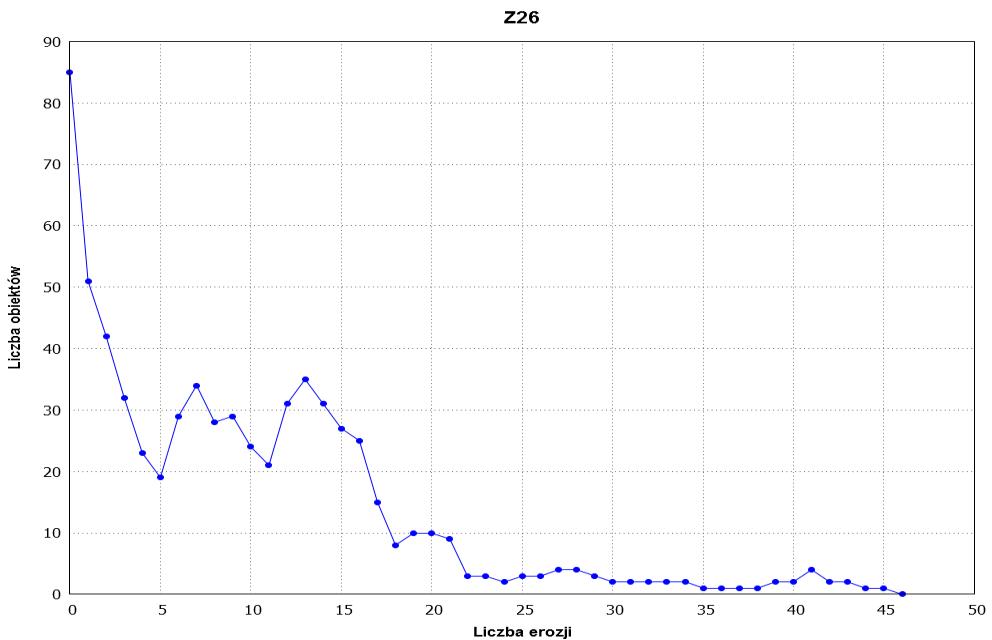
Wykres 10.28. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 1 mm dla zastawki Z39

10.2 WYKRESY ZALEŻNOŚCI LICZBY ZLICZONYCH OBIEKTÓW OD ILOŚCI WYKONANYCH OPERACJI EROZJI

10.2.1 GRUPA 1

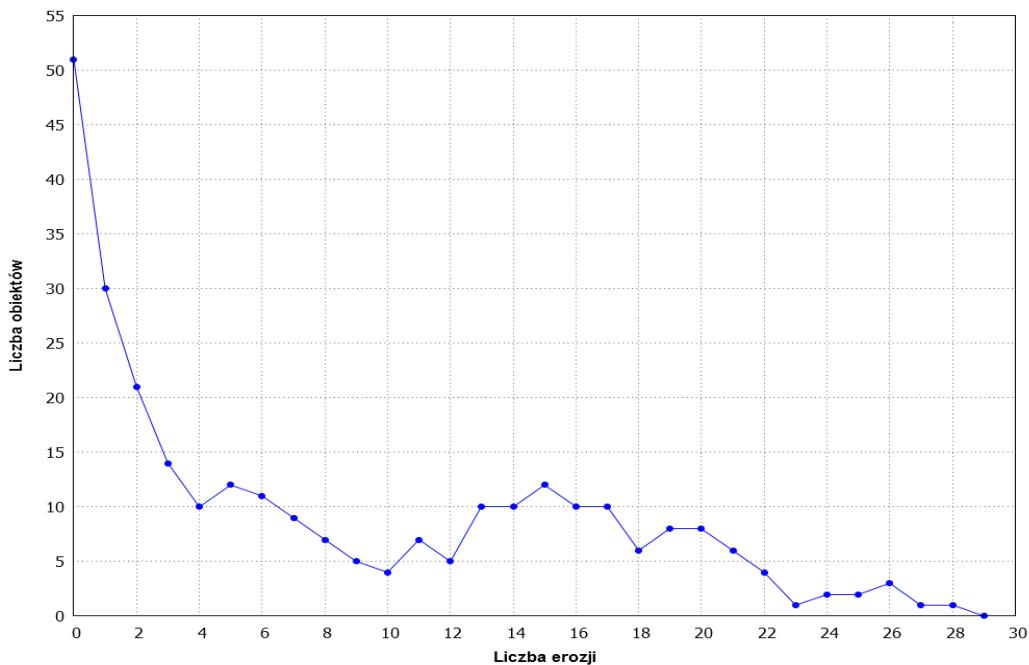


Wykres 10.29. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z20



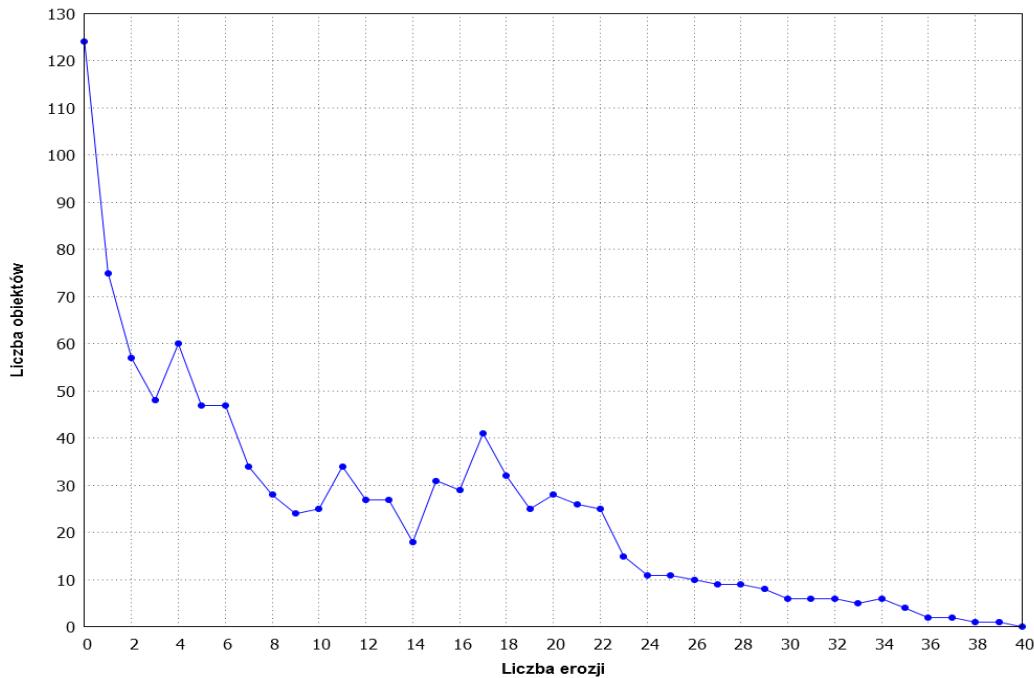
Wykres 10.30. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z26

Z29



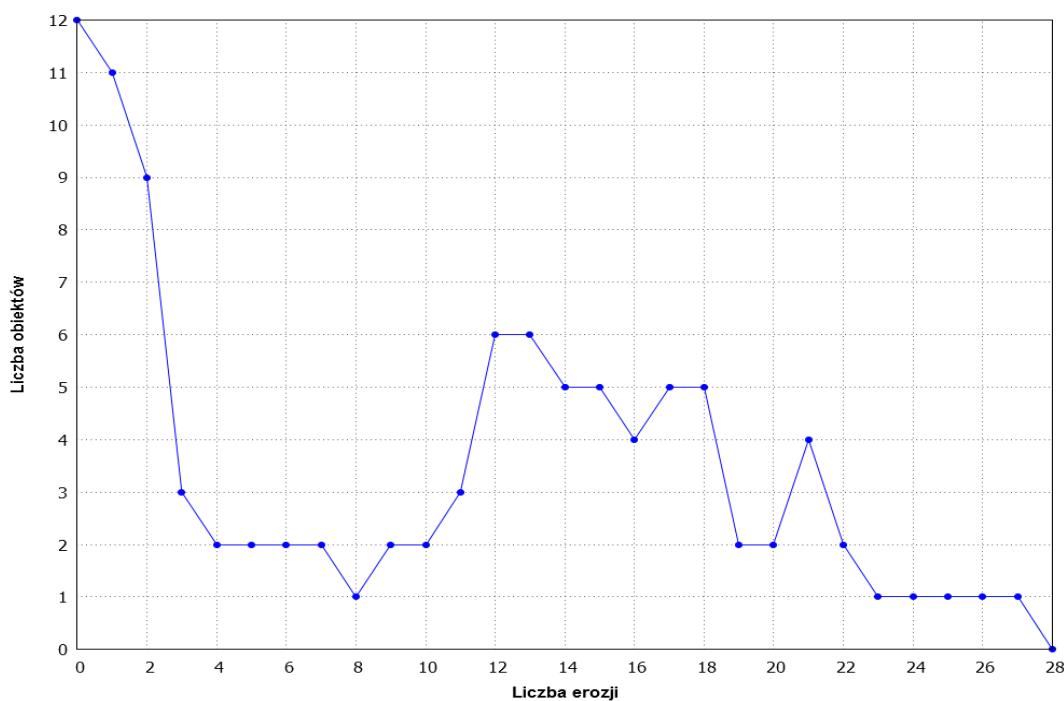
Wykres 10.31. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z29

Z30



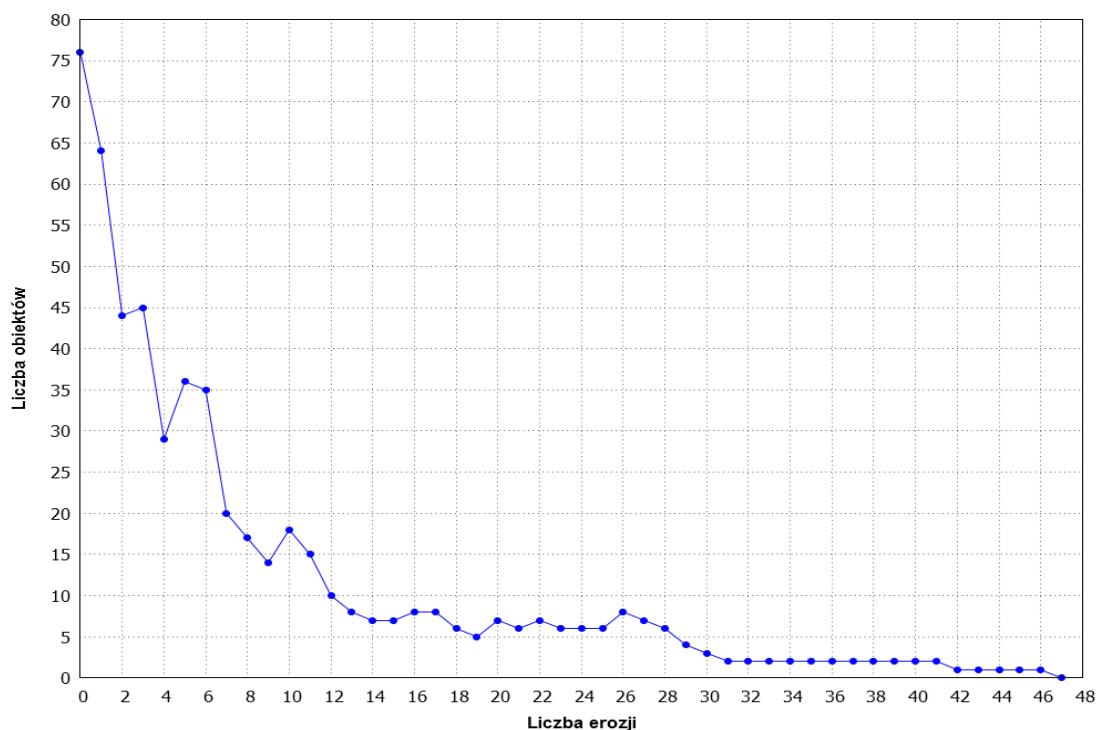
Wykres 10.32. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z30

Z40



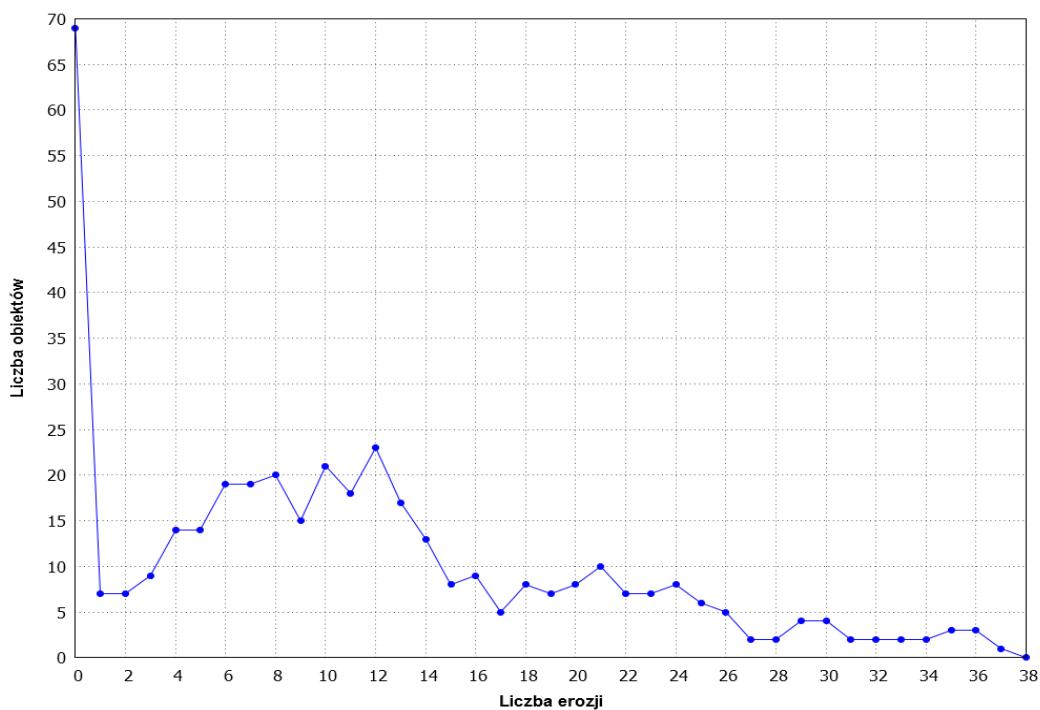
Wykres 10.33. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z40

Z41



Wykres 10.34. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z41

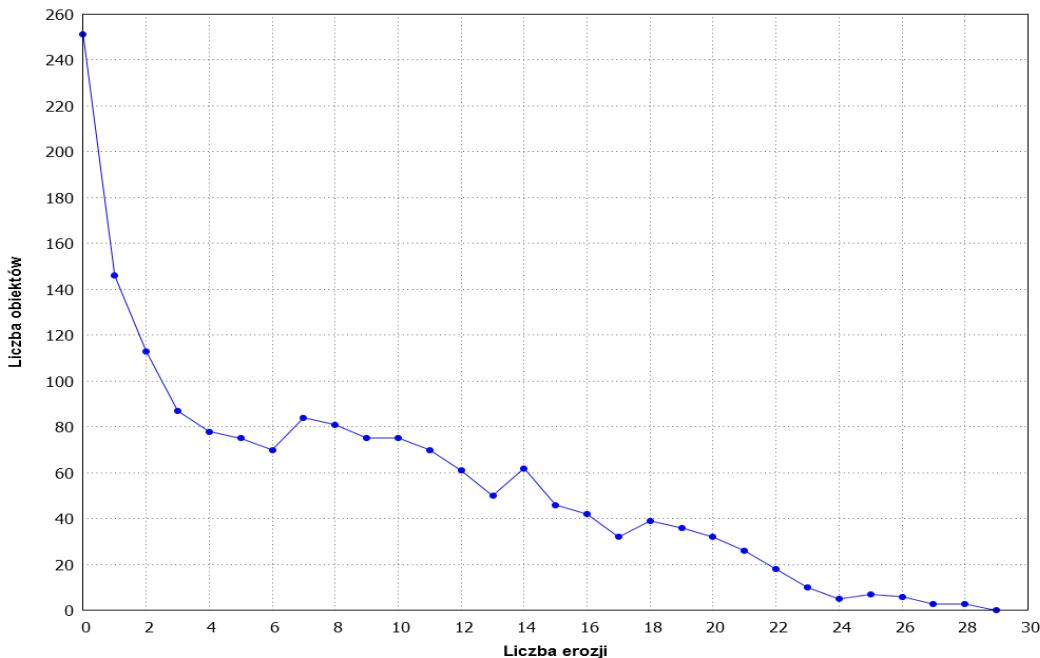
Z49



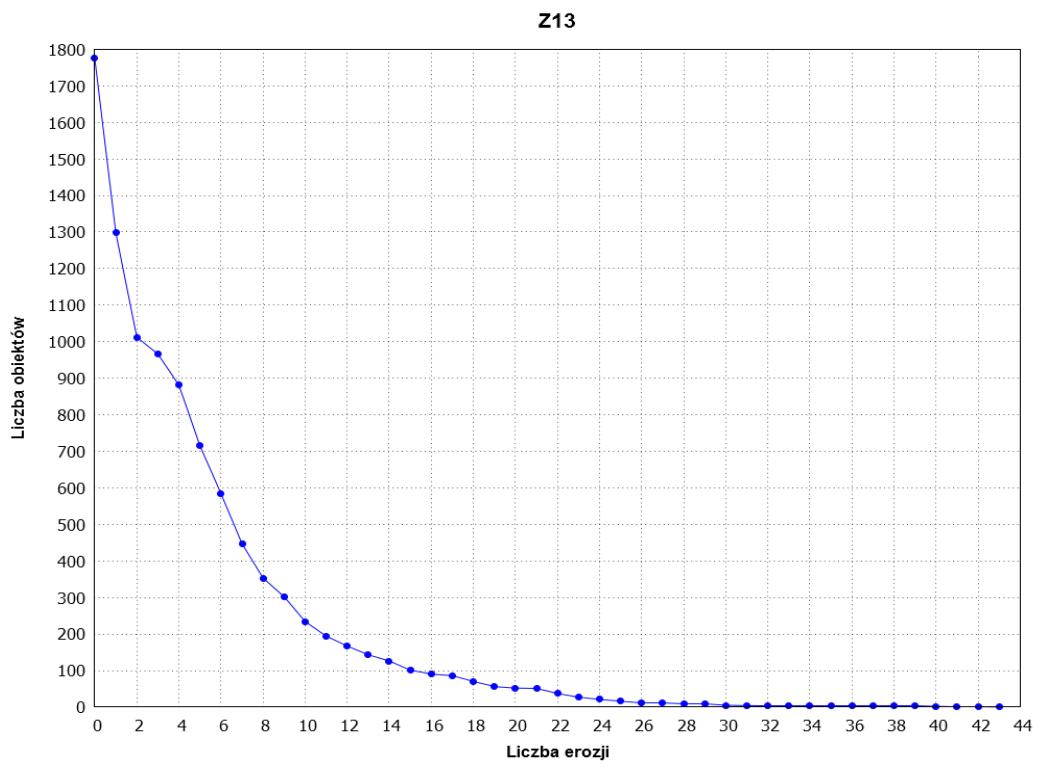
Wykres 10.35. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z49

10.2.2 GRUPA 2

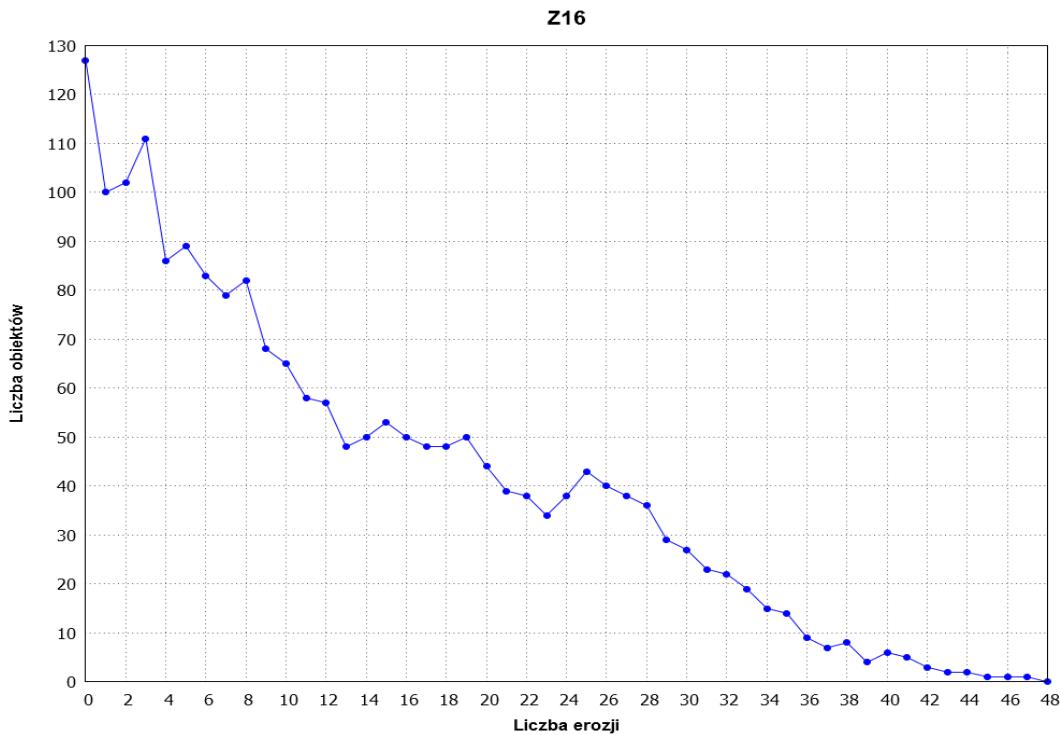
Z12



Wykres 10.36. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z12

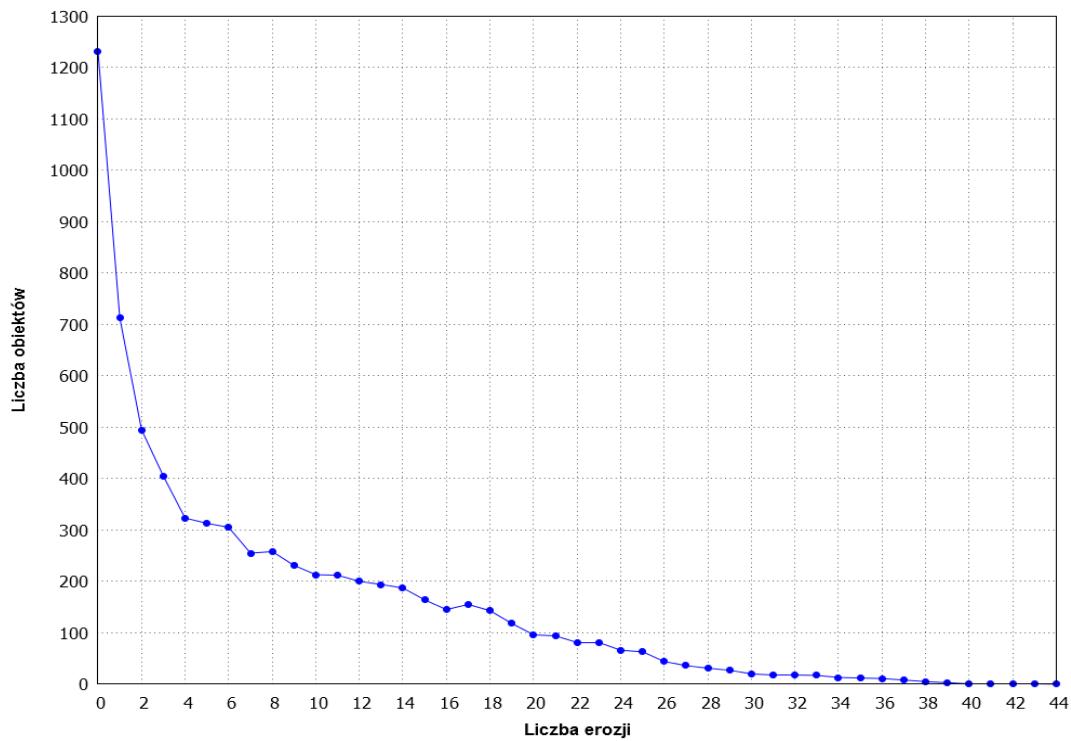


Wykres 10.37. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z13



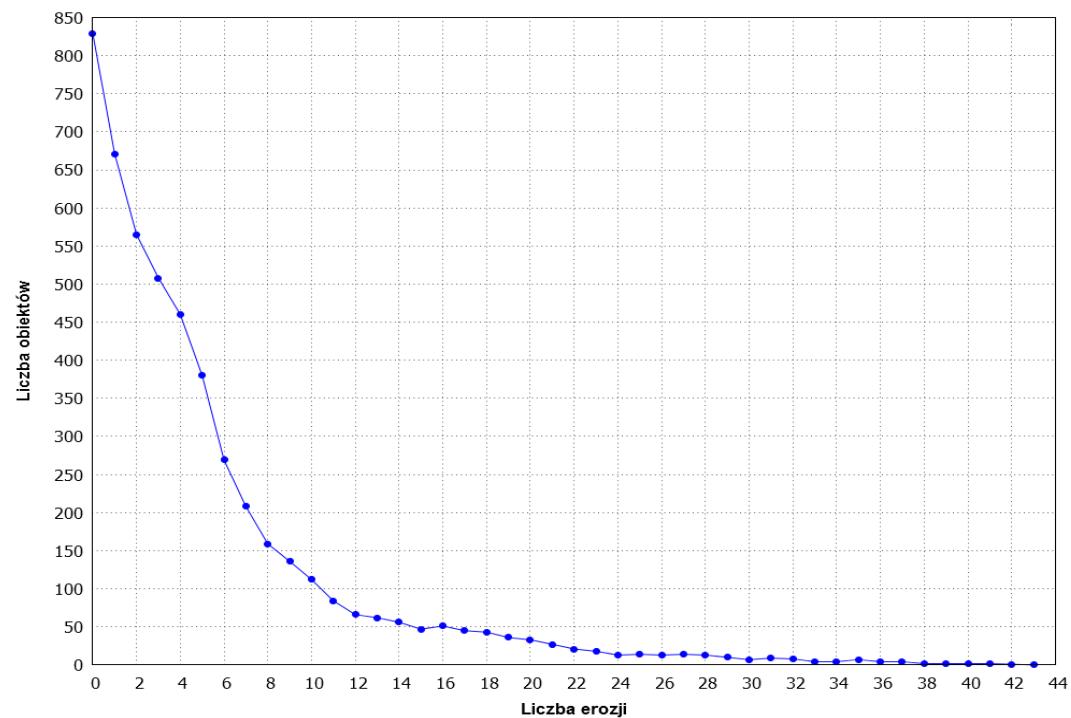
Wykres 10.38. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z16

Z21



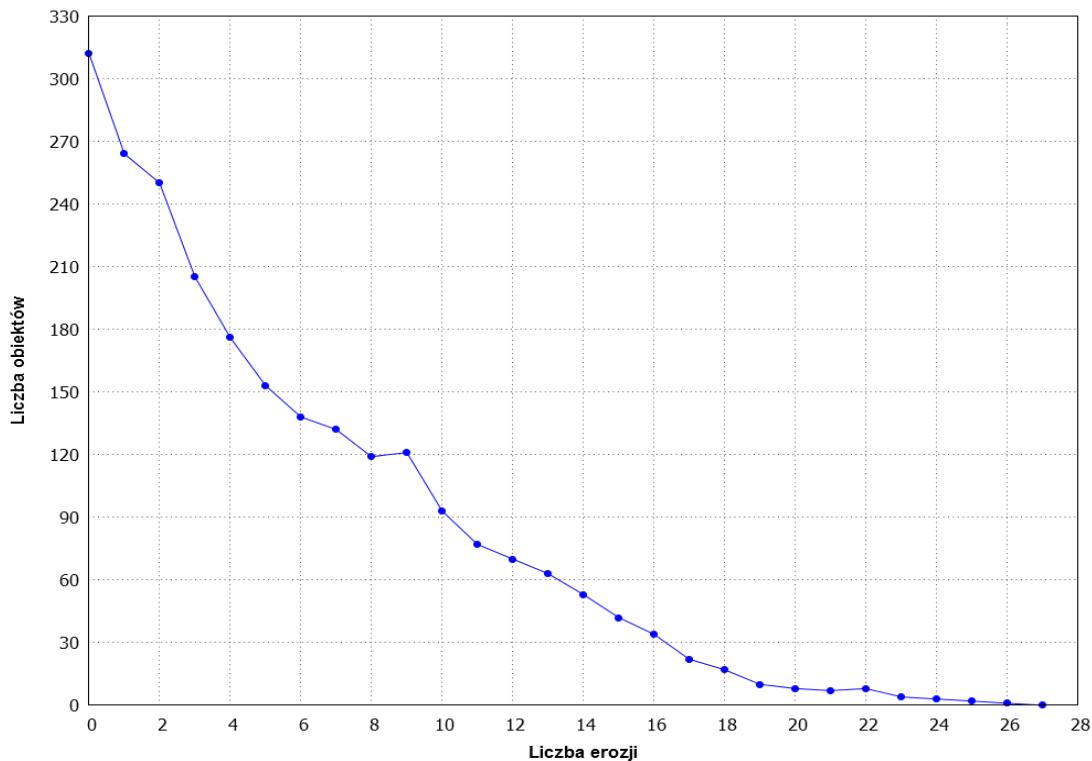
Wykres 10.39. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z21

Z22



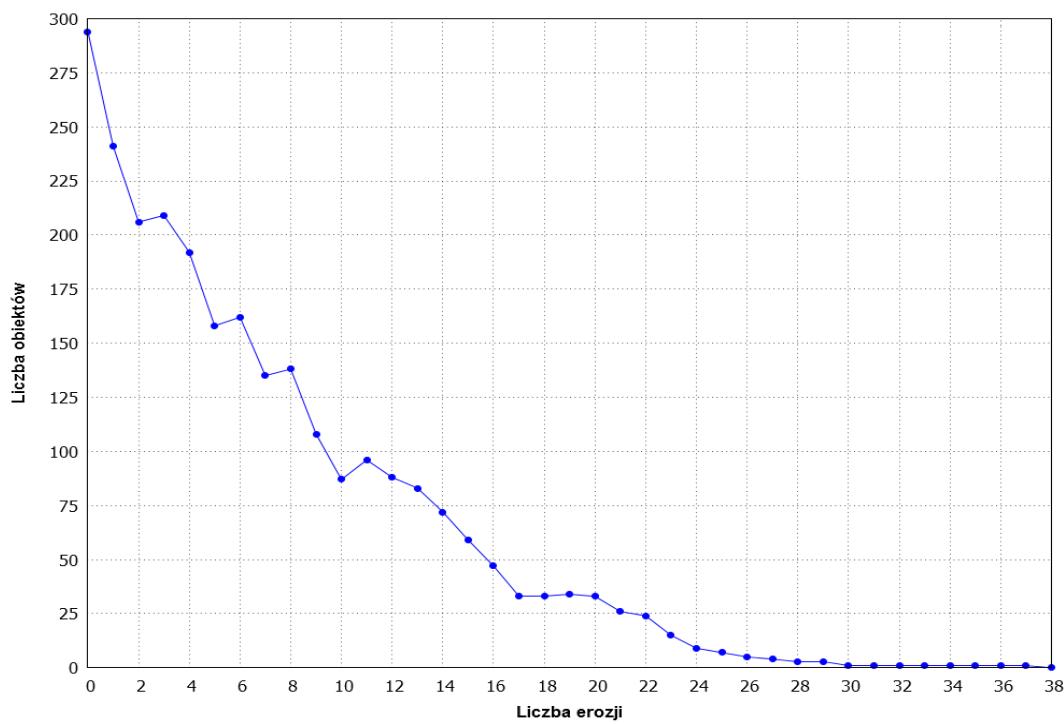
Wykres 10.40. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z22

Z23



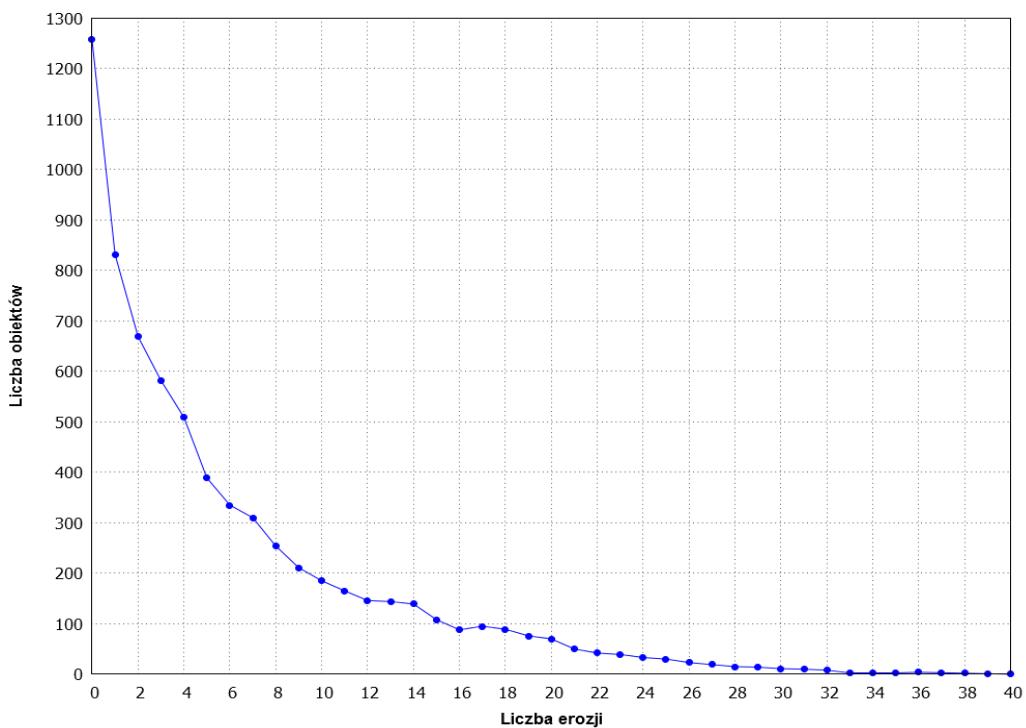
Wykres 10.41. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z23

Z24



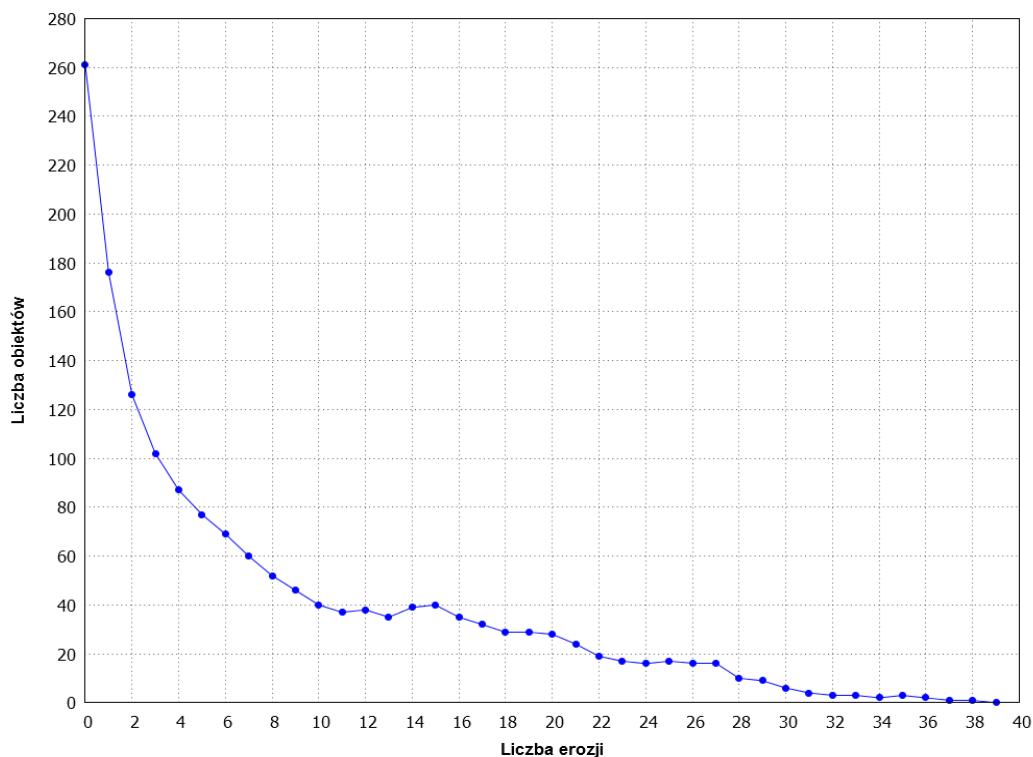
Wykres 10.42. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z24

Z25



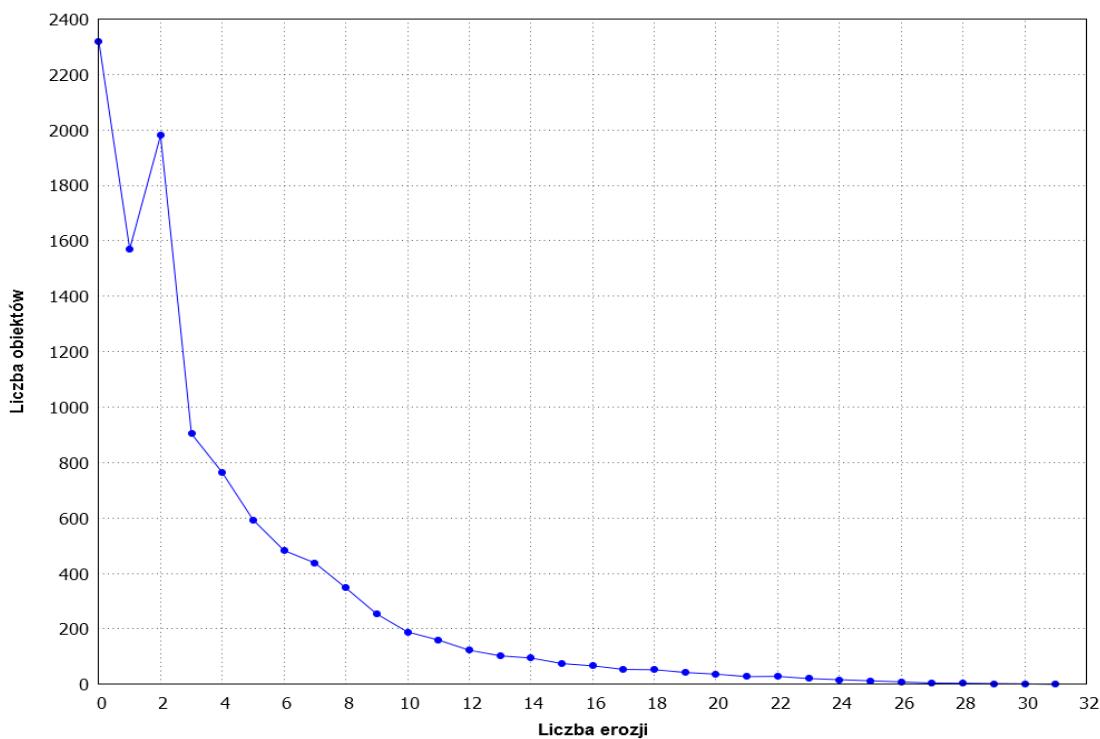
Wykres 10.43. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z25

Z28



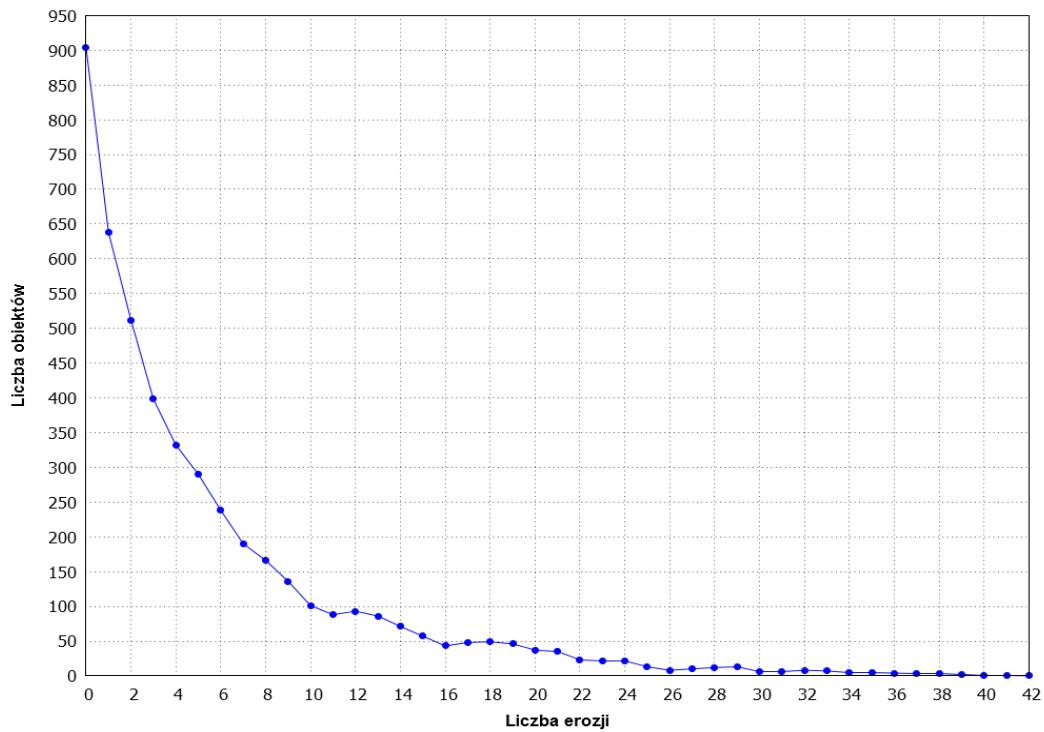
Wykres 10.44. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z28

Z31



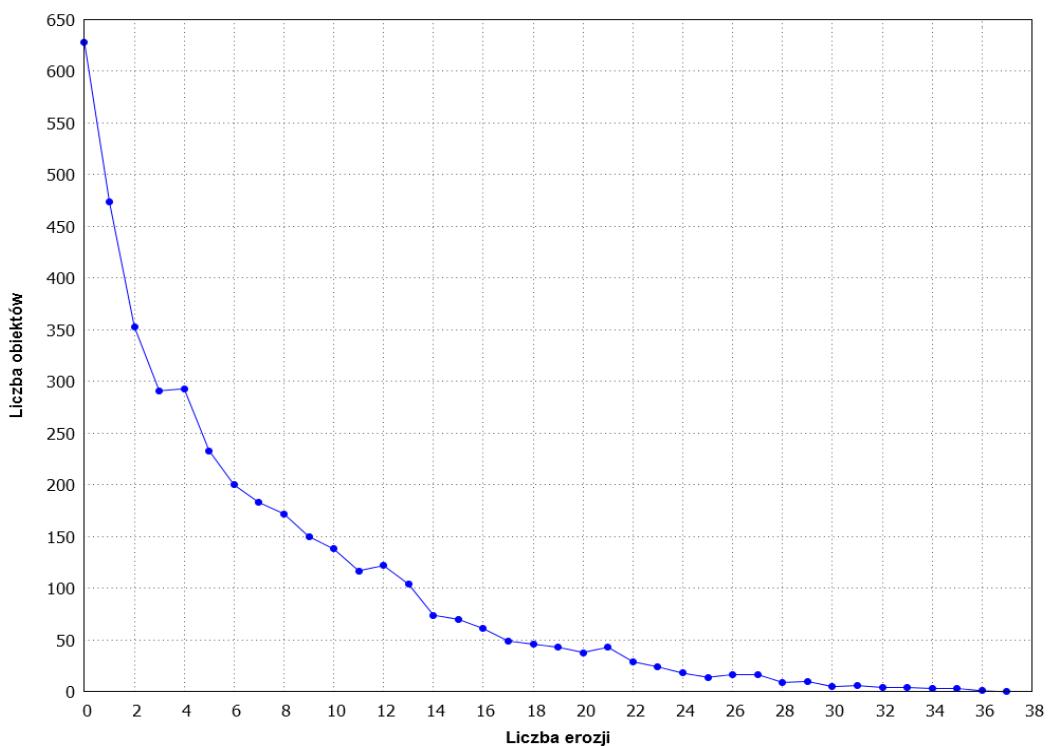
Wykres 10.45. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z31

Z32



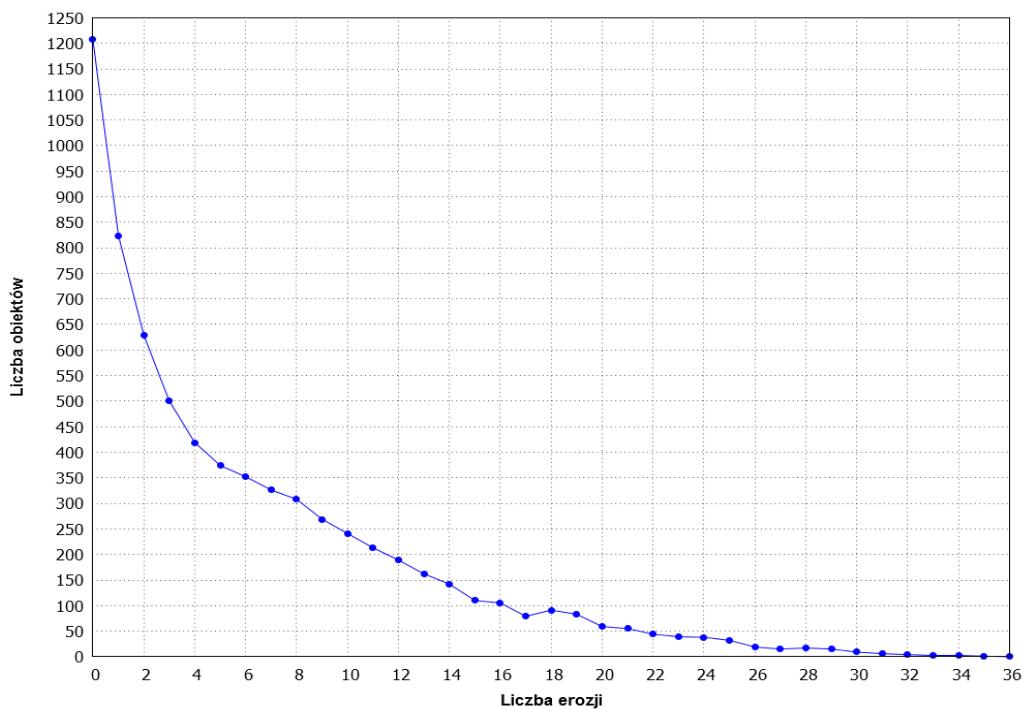
Wykres 10.46. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z32

Z33



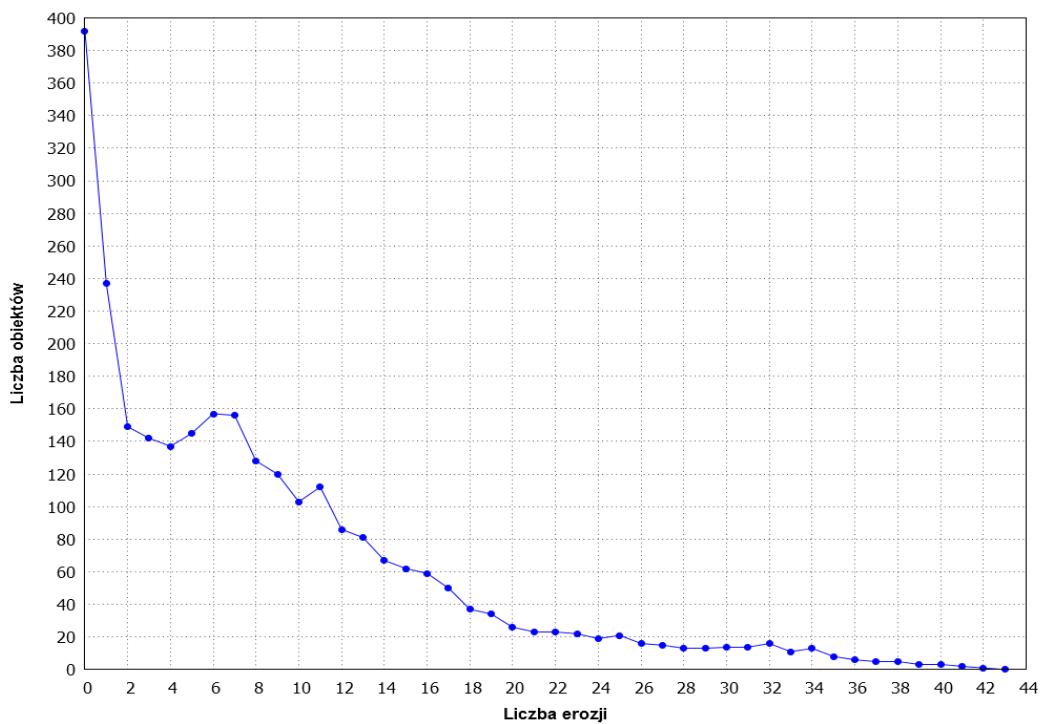
Wykres 10.47. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z33

Z36



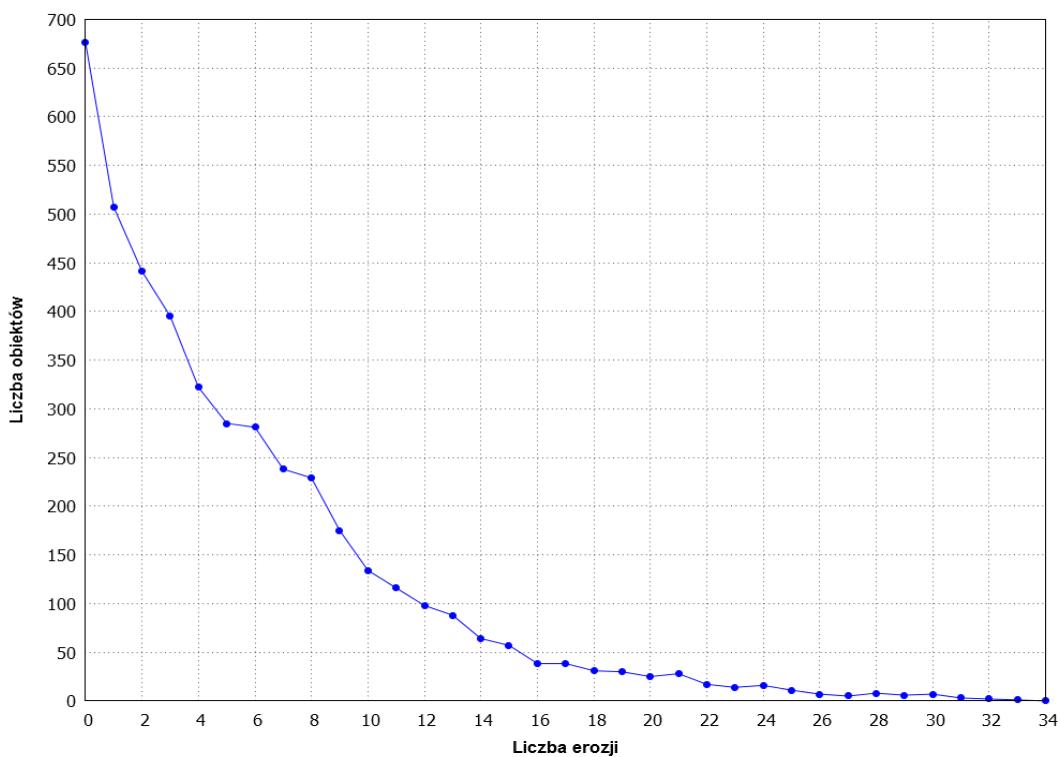
Wykres 10.48. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z36

Z37



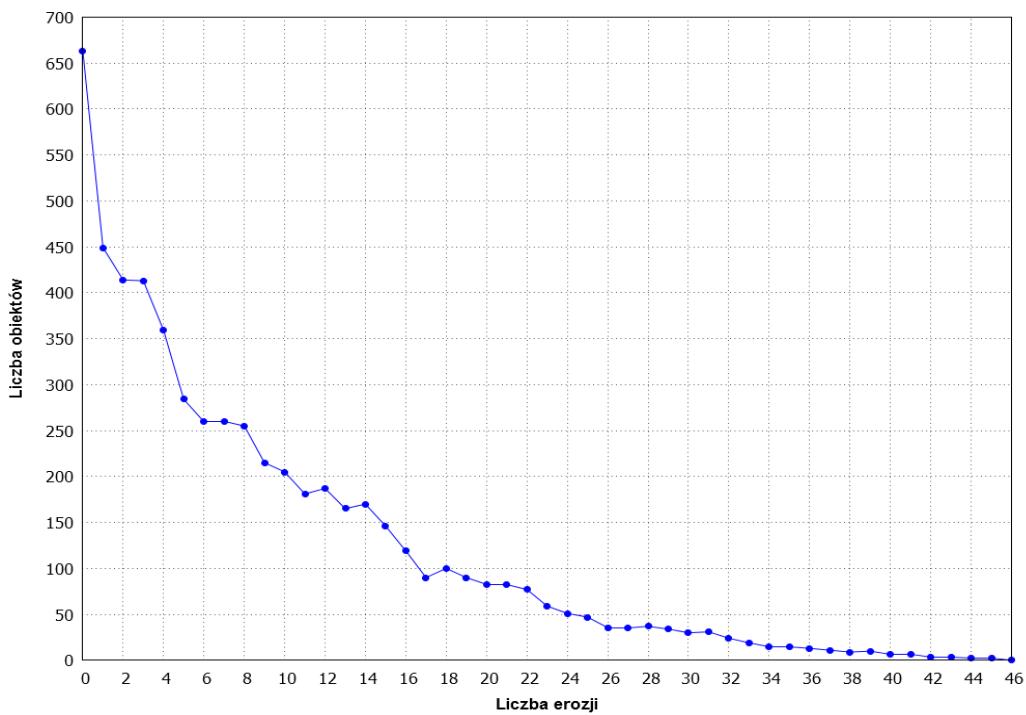
Wykres 10.49. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z37

Z39



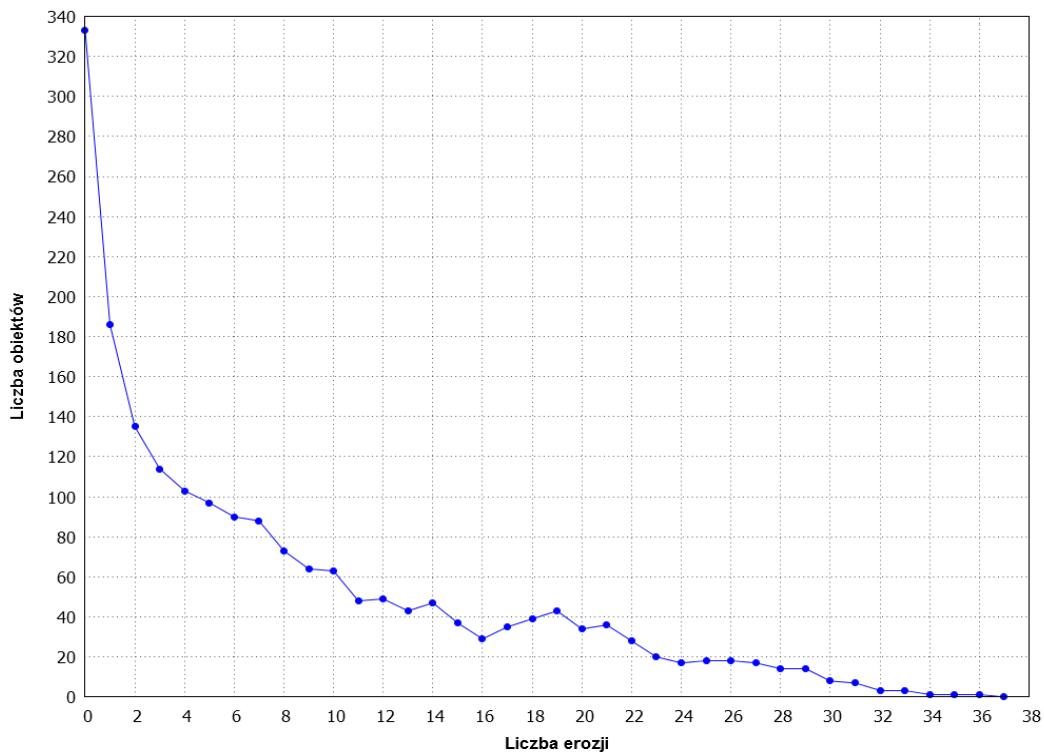
Wykres 10.50. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z39

Z42

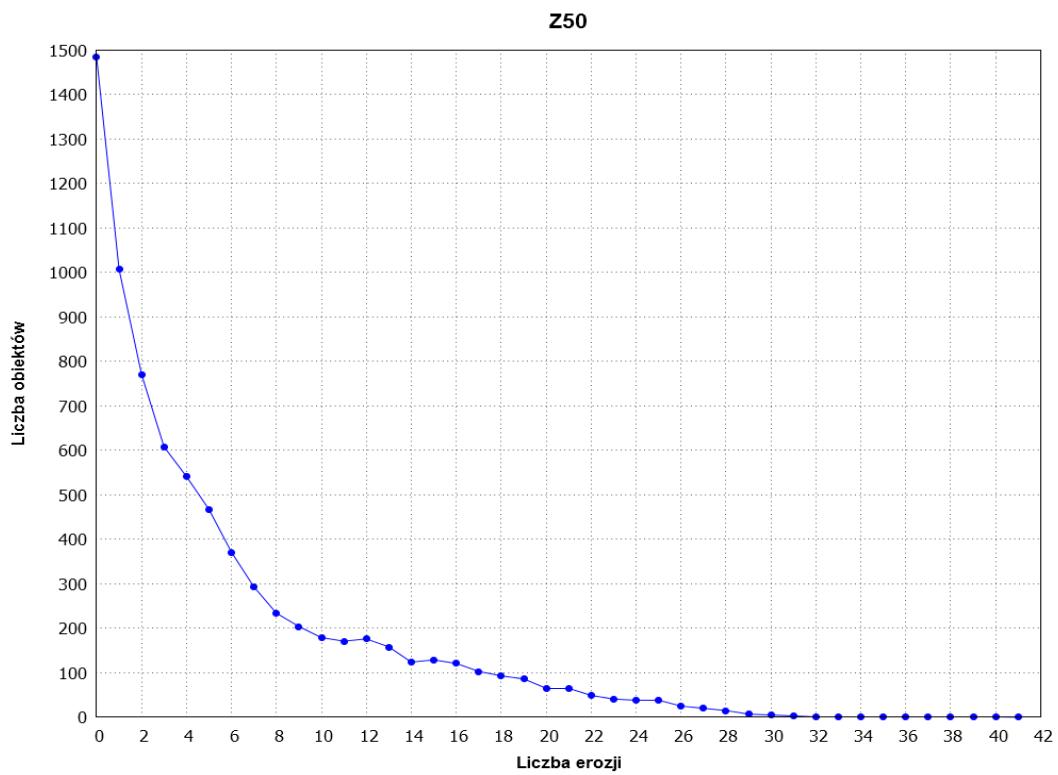


Wykres 10.51. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z42

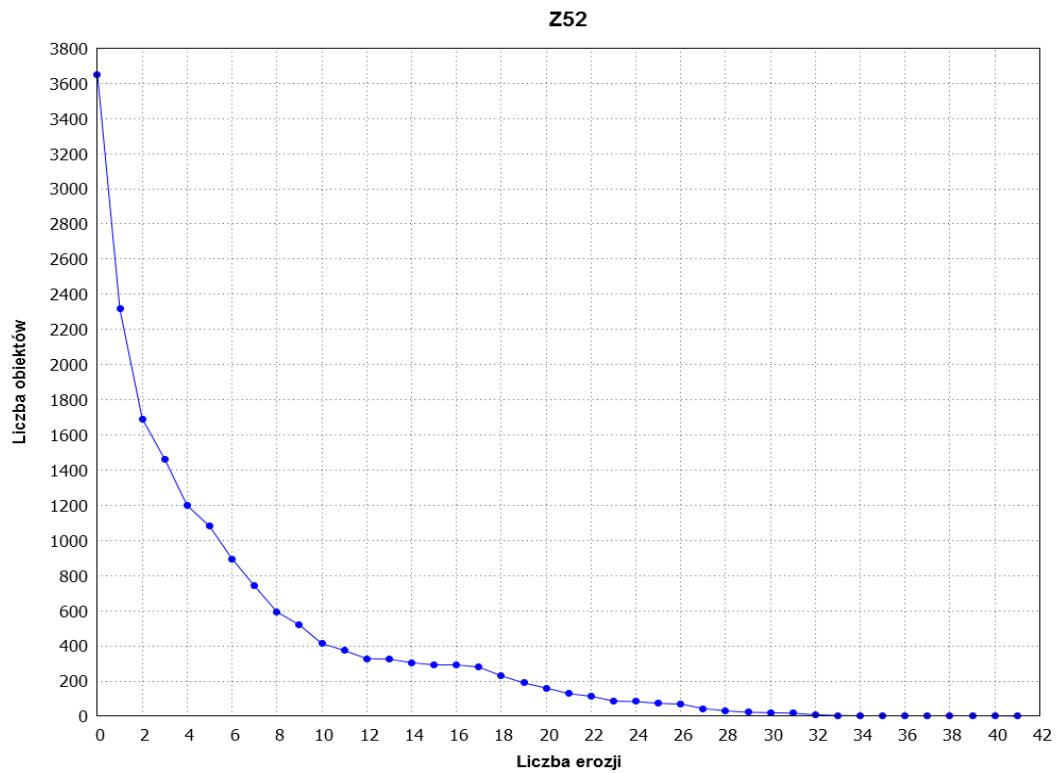
Z46



Wykres 10.52. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z46

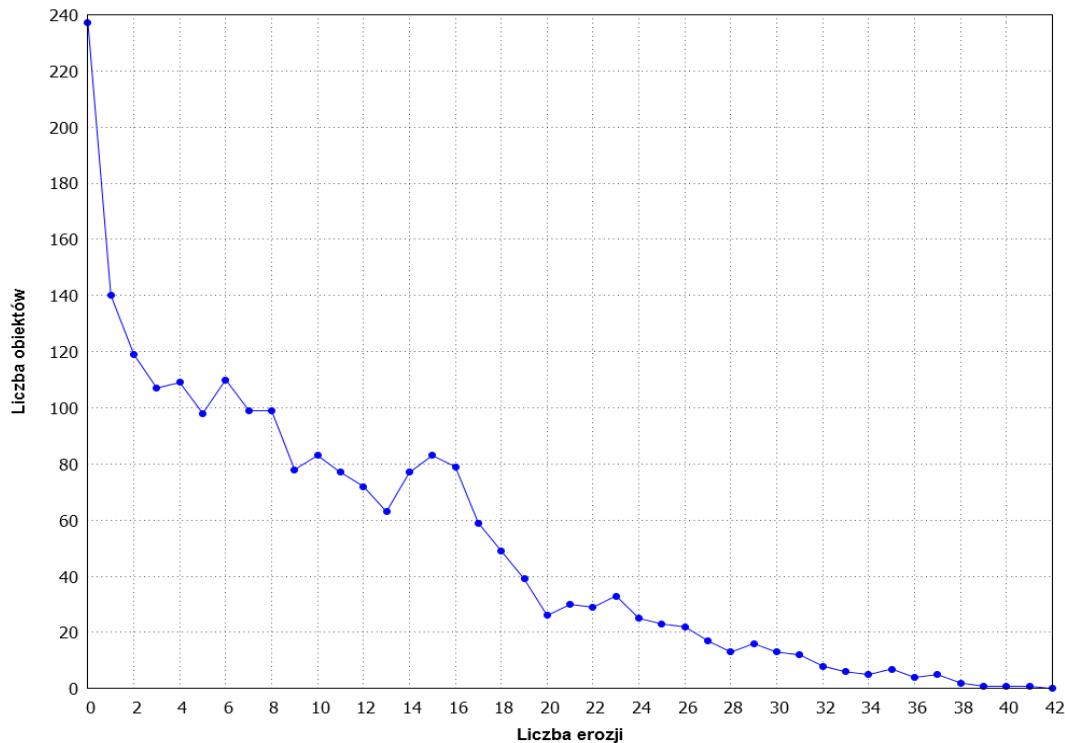


Wykres 10.53. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z50



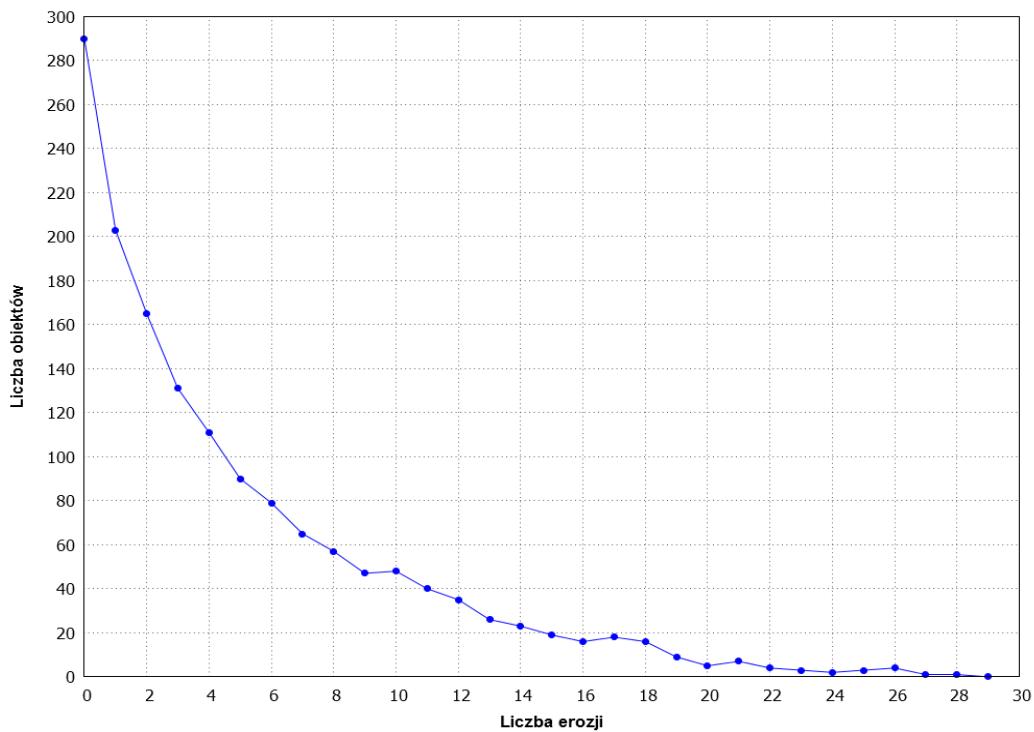
Wykres 10.54. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z52

Z53



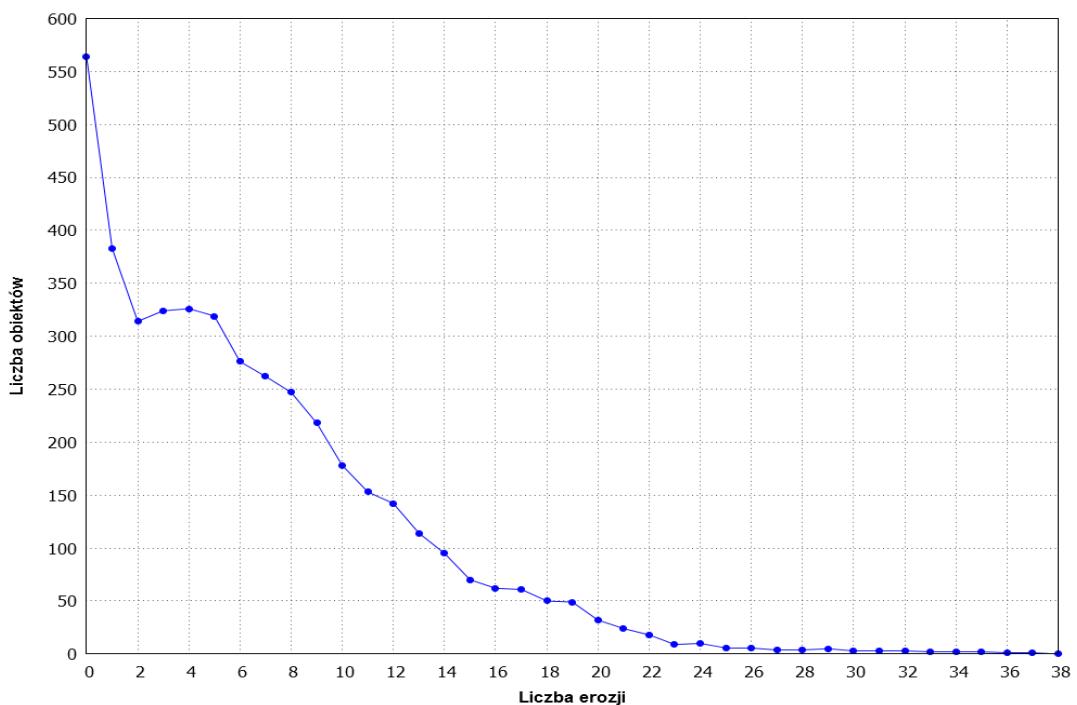
Wykres 10.55. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z53

Z57



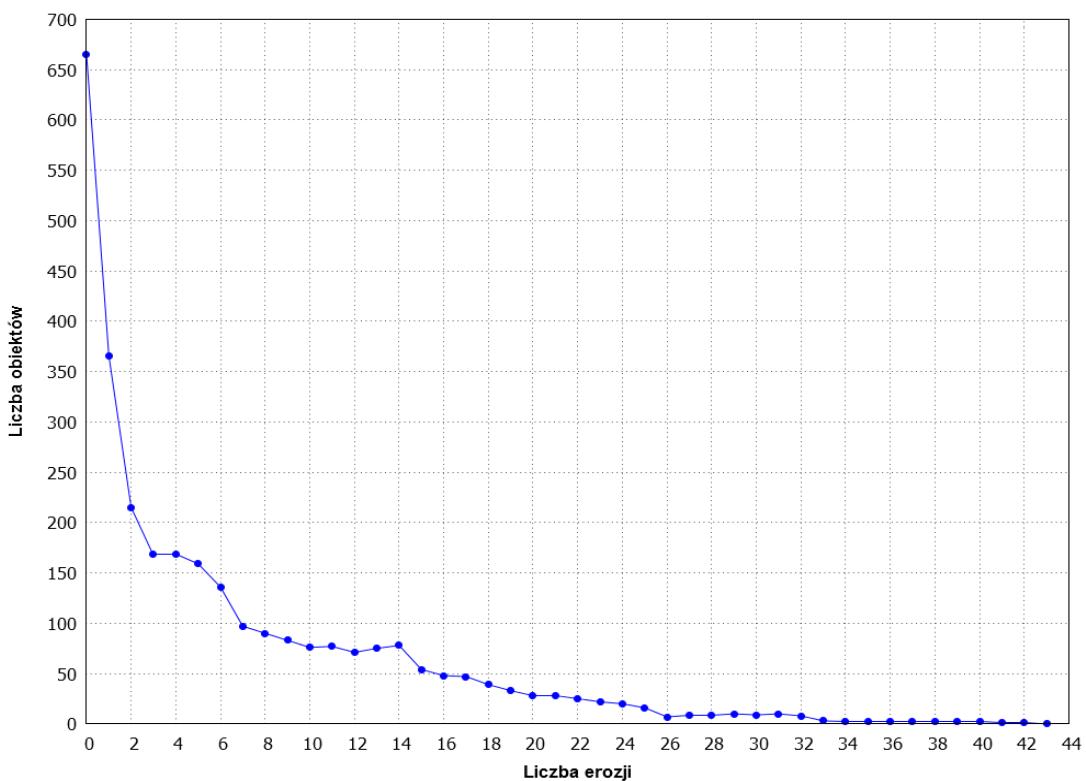
Wykres 10.56. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z57

Z58

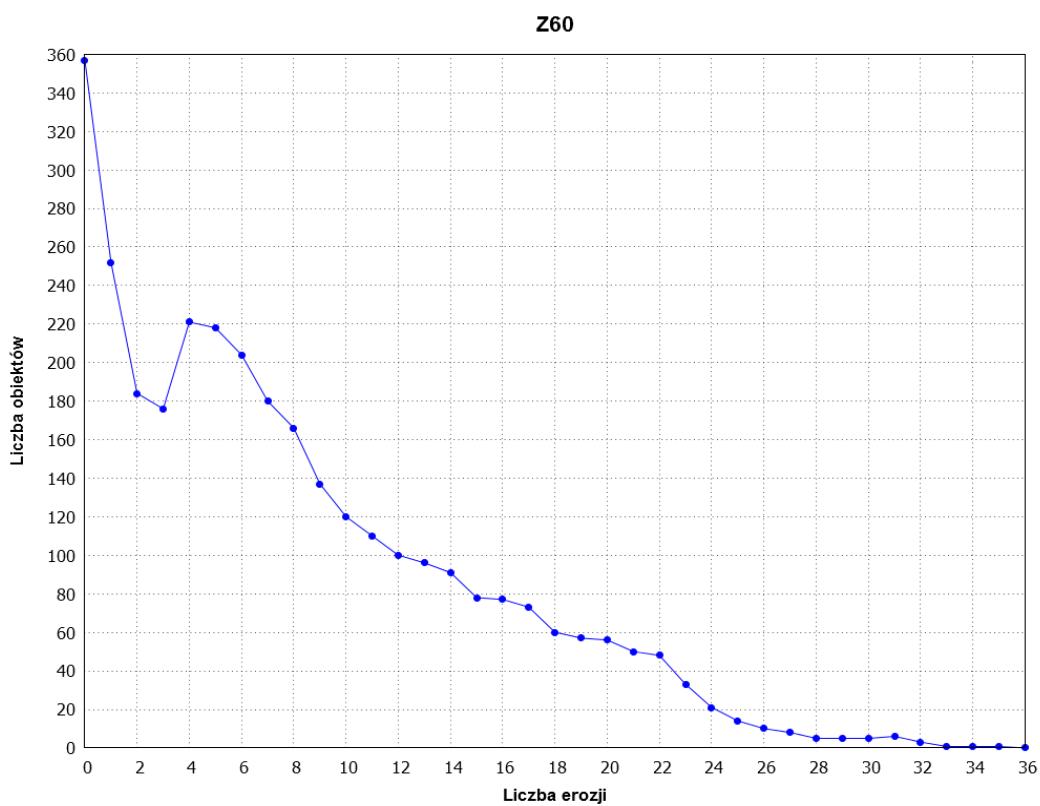


Wykres 10.57. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z58

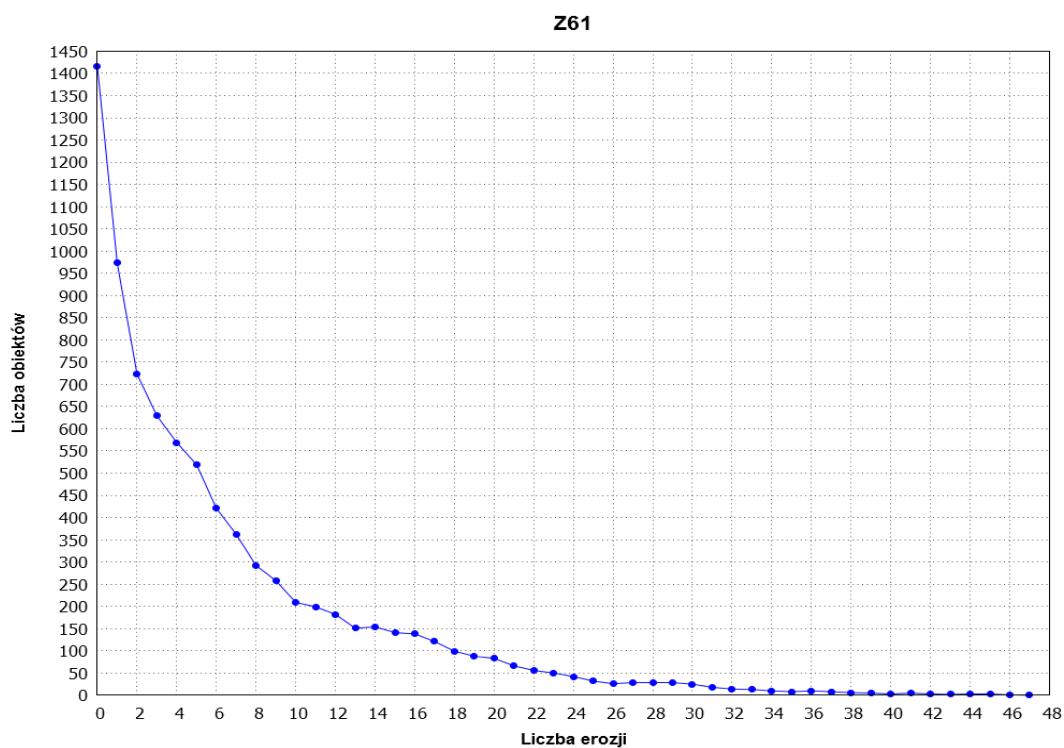
Z59



Wykres 10.58. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z59



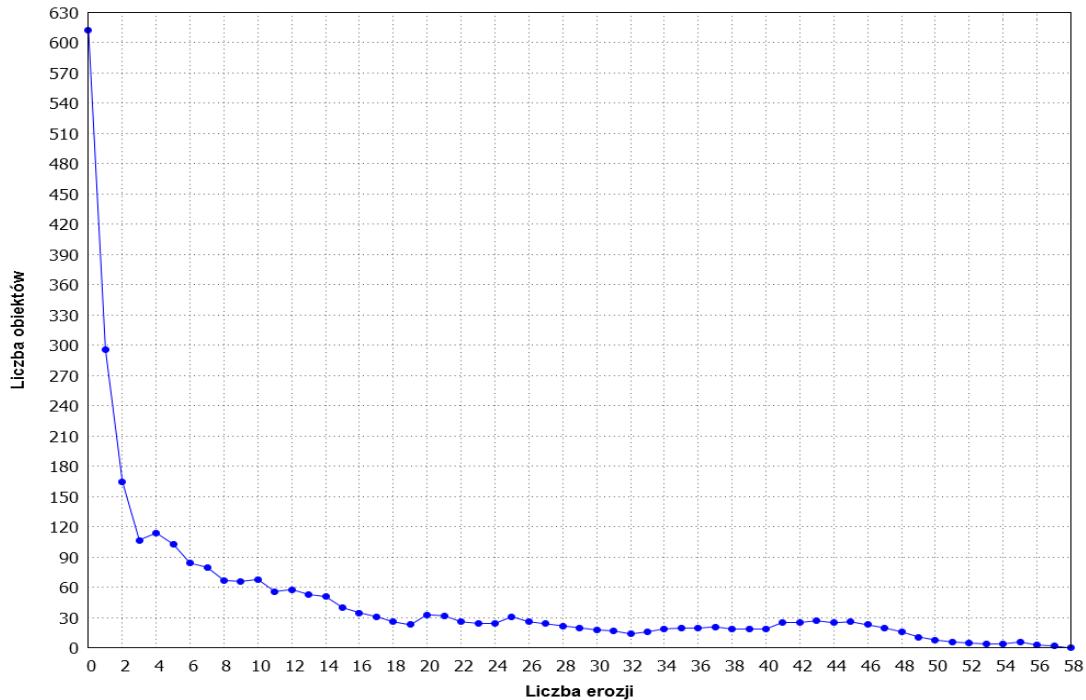
Wykres 10.59. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z60



Wykres 10.60. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z61

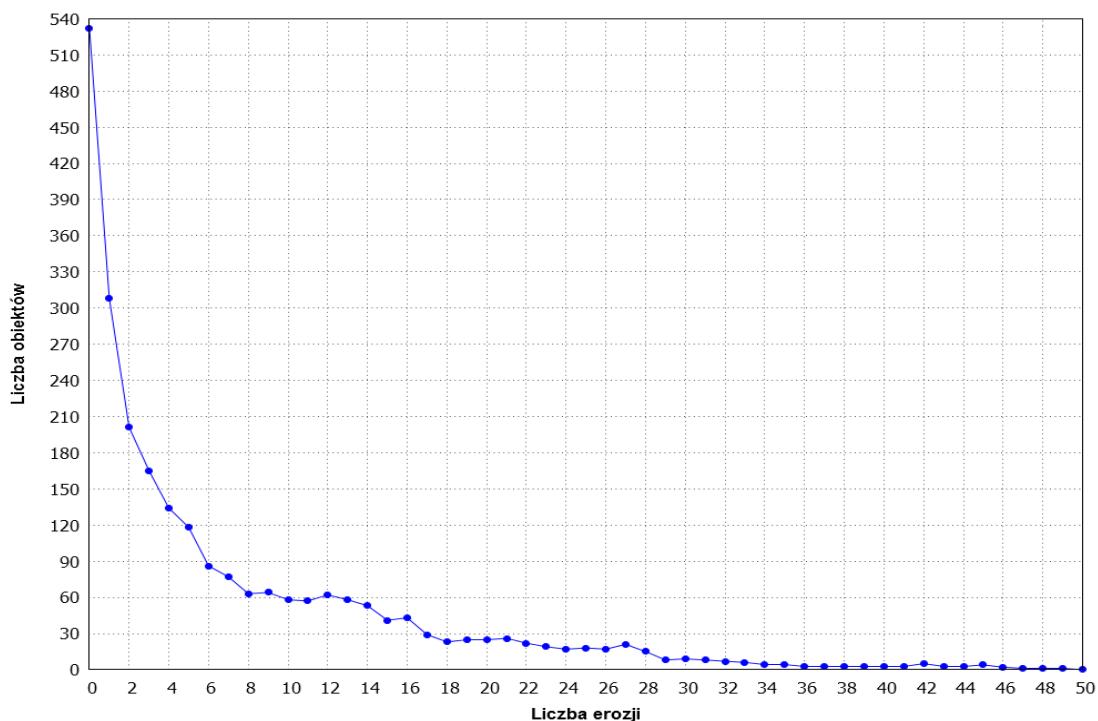
10.2.3 GRUPA 3

Z44



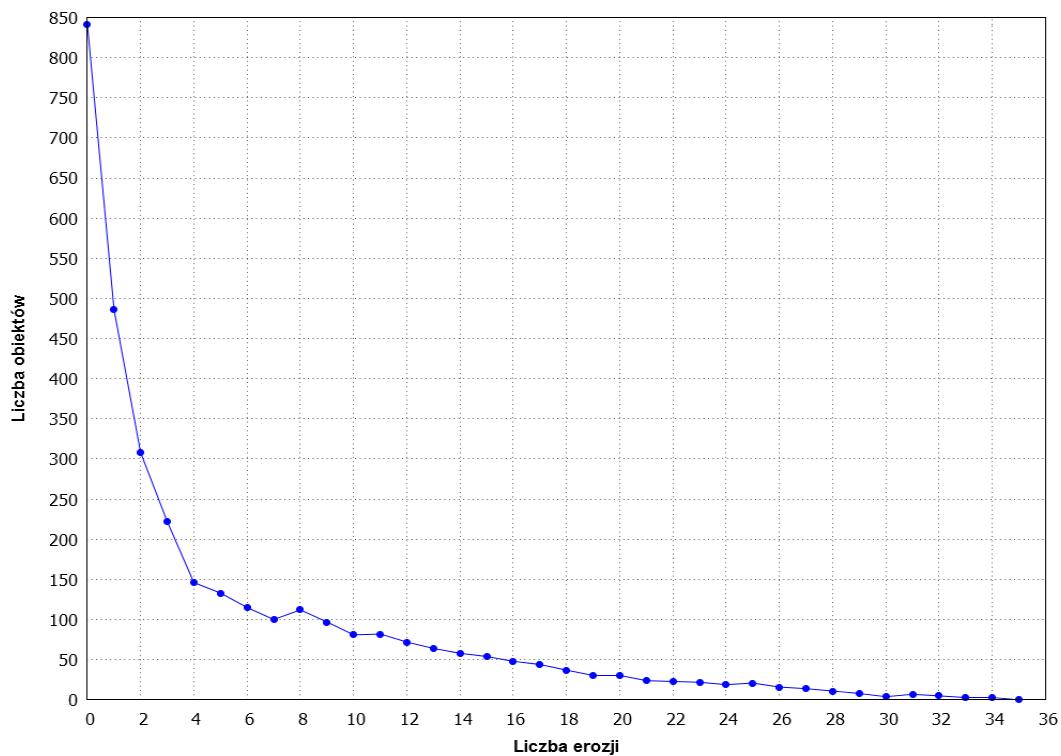
Wykres 10.61. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z44

Z47



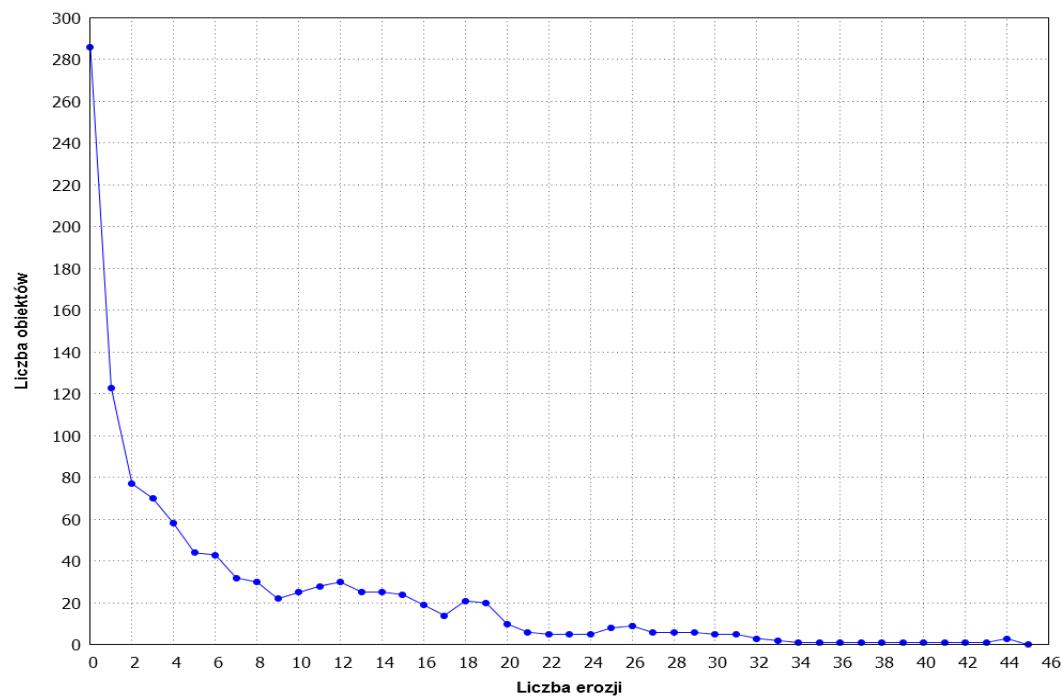
Wykres 10.62. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z47

Z54



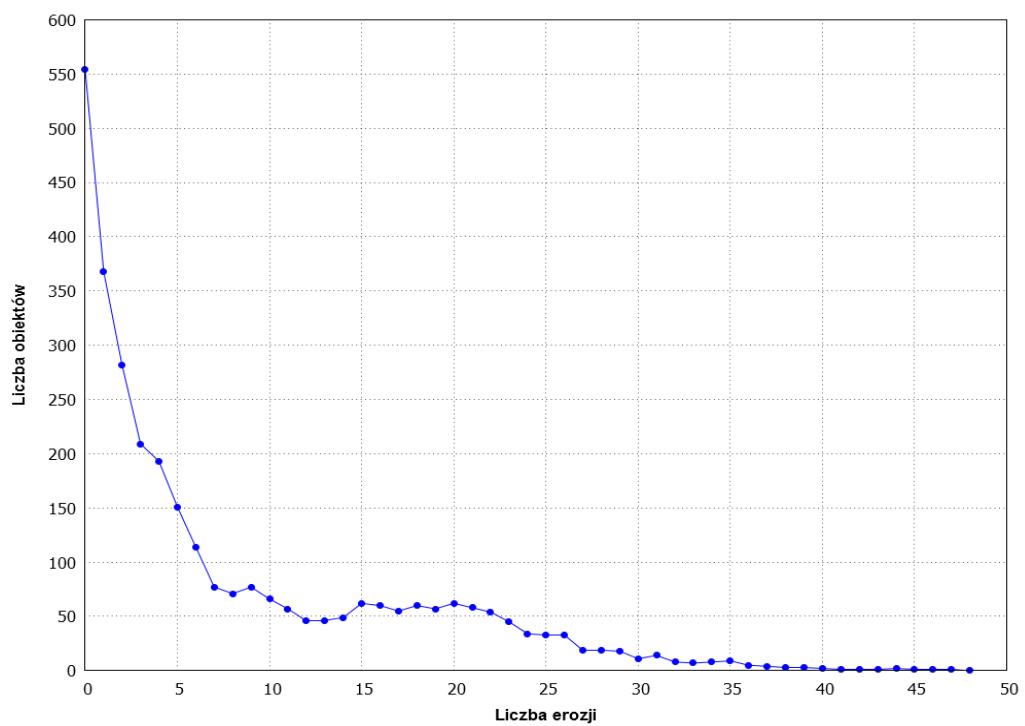
Wykres 10.63. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z54

Z55



Wykres 10.64. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z55

Z56



Wykres 10.65. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z56

11 DODATEK C - AUTORSKIE ALGORYTMY SŁUŻĄCE DO ANALIZY JAKOŚCIOWEJ ZŁOGÓW

11.1 DENSITY3D

```
d = 83.3333;           //skala
r = d*getNumber("Radius:". 1);          //promień
phi = 5;
theta = 5;

open("Ścieżka_do_obrazu_zastawki");
title = getTitle();
w = getWidth();
h = getHeight();

row = 0;
size = 360/phi;
size2 = 360/theta;
run("Clear Results");

for(i = 0; i < 256; i++){
    setResult(i.row.0);
    row++;
}

setOption("ShowRowNumbers". true);
updateResults();
selectWindow(title);

columns = newArray(256);
rows = newArray(256);

for(j = 0; j < 10000; j++){
    xc = (w-r/d)*random();           //współrzędna x punktu centralnego
    yc = (h-r/d)*random();           //współrzędna y punktu centralnego
    depth = round(nSlices*random());
    if(depth == 0){
        depth = 1;
    }
    if(depth > nSlices){
        depth = nSlices;
    }
    setSlice(depth);
    zc = getSliceNumber();           //współrzędna z punktu centralnego
    c = round(getPixel(xc.yc));      //jasność piksela centralnego
    if(c >= 70){
        columns[0] = rows[c];
```

```

        for(i = 0; i < size; i++){
            for(count = 0; count < size2; count++){
                x = xc+r*cos(rad(phi)*i)*cos(rad(theta)*count);      //współrzędna x
                z otoczenia
                y = yc+r*sin(rad(phi)*i)*cos(rad(theta)*count);      //współrzędna y
                z otoczenia
                z = round(zc+r*sin(rad(theta)*count));                //współrzędna z
                z otoczenia

                if(z <= 0){
                    z = 1;
                }
                if(z > nSlices){
                    z = nSlices;
                }
                setSlice(z);
                v = round(getPixel(x,y));
                if(v == 0){
                    rows[c]++;
                    setResult(0.c-1.rows[c]);
                }

                colums[v]++;
                setResult(v.c-1.colums[v]);
            }
        }
    }

updateResults();
saveAs("Results". "ściezka do zapisu wyników");
selectWindow(title);
close();

function rad(angle){
    a=Pi/(180/angle);
    return a;
}

```

11.2 ERODE

```

selectWindow("nazwa zastawki");
run("Particle Analyser". "min=0.0001 max=Infinity surface_resampling=2 show_particle surface=Gradient split=0.000 volume_resampling=2 labelling=Mapped slices=2");
selectWindow("nazwa zastawki ");
run("Erode (3D)". "iso=255");

```

12 BIBLIOGRAFIA

- [1] O. Narkiewicz. j. Moryś. *Anatomia człowieka. tom III.* Wydawnictwo Lekarskie PZWL. Warszawa. 2010. s. 31. 39-42.
- [2] A. Bochenek. M. Reicher. *Anatomia człowieka. Tom V. Układ wewnętrzno-dzielniczy. Układ naczyniowy.* Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich. Warszawa. wydanie IV. 1960. s. 106-107. 132-141. 156.
- [3] C. Yokochi. J. W. Rohen. *Anatomia człowieka. Atlas fotograficzny anatomii systematycznej i topograficznej.* Oficyna Wydawnicza "Kaliope". Warszawa. Wydanie I. 1995.
- [4] A. Borowiec-Kocańda. R. Dąbrowski. *Zwężenie zastawki aortalnej - nie tylko leczenie chirurgiczne?* Kardiologia Polska. 2008. 66. s. 443-446.
- [5] H. Baumgartner. J. Hung. J. Bermejo. J. B. Chambers. A. Evangelista. et. al.. *Echocardiographic assessment of valve stenosis: EAE/ASE recommendations for clinical practice.* European Journal of Echocardiography. European Society of Cardiology. 2008. 10. s.1- 12.
- [6] A. Boon. E. Cheriex. J. Lodder. F. Kessels. *Cardiac valve calcification: characteristic of patients with calcification of the mitral annulus or aortic valve.* Heart. 1997. 78. s. 472-474 [dostęp: 2016/02/20]. dostępny w Internecie: <http://heart.bmjjournals.com>.
- [7] T. Zapolski. A. Wysokiński. L. Janicka. A. Grzebalska. A. Książek. *Sztywność aorty oraz zwężnienia zastawek serca u chorych z przewlekłą niewydolnością nerek.* Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej. Medycyna Praktyczna. Kraków. 2008. 118. s.1-7.
- [8] N. M. Rajamannan. *Calcific aortic stenosis: a disease ready for prime time.* Circulation. American Heart Association. 2006. 114. s. 2007-2009. dostępny w Internecie: <http://circ.ahajournals.org/content/114/19/2007>.
- [9] W. Karwoski. B. Naumnik. *Kalcyfikacja naczyń - problem interdyscyplinarny.* Forum Nefrologiczne. Via Medica. 2011. tom 4. nr 2. s. 91-99.
- [10] R. Rosenheck. R. Zilberszac. M. Schemper. et. al.. *Natural history of very severe aortic stenosis.* Circulation. 2010. 121. s. 151-156.
- [11] S. R. Stock. *MicroComputed tomography methodology and applications.* CRC Press. USA. 2009.

- [12] E. J. Wormer. *Czy jesteś zdrowy? Jak interpretować wyniki badań laboratoryjnych? Co jest normą? Jakie testy można wykonać w domu?*. Bauer-Weltbild Media. Warszawa. 2003.

Strony internetowe:

- [13] http://www.anatomia.gmo.pl/ukl_kra.html [dostęp: 2016/05/02].
- [14] <http://www.carint.pl/dla-pacjenta/artykuly/68-wady-zastawek-serca-zwzenie-zastawki-aortalnej.html> [dostęp: 2016/05/03].
- [15] <http://www.informed.com.pl/main/Stenoza-zastawki-aortalnej-a-156.html> [dostęp: 2016/02/20].
- [16] http://www.ptkardio.pl/Przebieg_naturalny_zaawansowanej_stenozy_aortalnej-165 [dostęp: 2016/02/20].
- [17] <http://www.mp.pl/artykuly/30365> [dostęp: 2016/05/03].
- [18] <http://www.kardiolo.pl/niedomykalnosczastawkaortalnej.htm> [dostęp: 2016/02/20].
- [19] <http://marfan.pl/202-zespol-marfana-opis.html> [dostęp: 2016/05/03].
- [20] <http://kardiologia.wiesjak.polki.pl/na-czym-polega-niedomykalnosczastawki-aortalnej.wady-serca-artykul.10353511.html> [dostęp: 2016/05/03].
- [21] <http://www.mp.pl/artykuly/26297> [dostęp: 2016/05/07].
- [22] <https://quizlet.com/3021100/pathology-slides-flash-cards> [dostęp: 2016/05/07].
- [23] <https://pl.wikipedia.org/wiki/Hiperkalcemia> [dostęp: 2016/05/22].
- [24] <http://www.ge-mcs/en/radiography-x-ray/ct-computed-tomography/nanotom-s.html>. [dostęp: 2016/05/03].
- [25] <http://bonej.org>. [ostatnia aktualizacja: 2015/08/27].
- [26] <https://imagej.nih.gov/ij/developer/macro/macros.html> [dostęp: 2016/06/01].
- [27] https://www.bryk.pl/s%C5%82owniki/s%C5%82ownik_biologiczny/85529-antygen.html [dostęp: 2016/06/01].
- [28] http://www.klastes.waw.pl/4rok/immunologiakliniczna/normy_cd.pdf [dostęp: 2016/05/01].

13 SPIS ILUSTRACJI

Rysunek 3.1. Dokładny schemat przedstawiający krwioobieg duży i mały [13]	15
Rysunek 3.2. Zastawki serca: 1 - zastawka pnia płucnego, 2 - zatoka pnia płucnego, 3 - tętnica wieńcowa lewa, 4 - żyła wielka serca, 5 - zastawka przedsionkowo-komorowa lewa, 6 - zatoka wieńcowa, 7 - zastawka aorty, 8 - tętnica wieńcowa prawa, 9 - zastawka przedsionkowo-komorowa prawa, 10 - opuszka aorty [3]	16
Rysunek 3.3. Zastawki tętnicze. Zastawka pnia płucnego: 11 - płatek przedni, 12 - płatek lewy, 13 - płatek prawy; Zastawka aorty: 14 - płatek lewy, 15 - płatek prawy, 16 - płatek tylny [3]	17
Rysunek 3.4. Pojedyncze płatki półksiężycowe zastawek aortalnych z widocznymi zwapnieniami.....	19
Rysunek 3.5. Echokardiografia przezklatkowa (projekcja koniuszkowa 4-jamowa) 23-letniego mężczyzny z bezobjawową niedomykalnością zastawki aortalnej; A - badanie wykonane techniką kolorowego Dopplera (widoczna fala niedomykalności zastawki aortalnej o szerokiej podstawie; B - ocena fali zwrotnej krwi przepływającej przez zastawkę aortalną wykonana techniką Dopplera ciągłego - widoczny jest szybki spadek prędkości fali wypełniającej lewą komorę (oznaczony strzałkami) [21]	22
Rysunek 3.6. AVR (ang. Aortic Valve Replacement), czyli zabieg chirurgiczny polegający na zastąpieniu zastawki aortalnej sztuczną bioprotezą [22]	23
Rysunek 3.7. Etiologia stenozy aortalnej; górny rzad prezentuje zamkniętą zastawkę, dolny - otwartą. A - normalna, zdrowa zastawka aortalna, B - nabyta wada zastawkowa o podłożu reumatycznym, C - zastawka aortalna ze zwapnieniami, D - wrodzona wada zastawkowa (zastawka dwupłatkowa) [5].	24
Rysunek 3.8. Plastikowy pojemnik na płatki półksiężycowe.....	33
Rysunek 3.9. Nanotom® S [13].....	33
Rysunek 3.10. Krzywa progowania dla zastawki Z16 z zaznaczoną wartością obranego progu jasności (po prawej), na podstawie której dokonano binaryzacji obrazu (po lewej); kolorem czerwonym zaznaczono obszar, jaki zajmują złogi wapienne.....	35

Rysunek 5.1. Pojedynczy przekrój przez zastawkę Z12.....	59
Rysunek 5.2. Pojedynczy przekrój przez zastawkę Z17.....	61
Rysunek 5.3. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.03 mm (po lewej) i 0.1 mm (po prawej) dla zastawki Z17	61
Rysunek 5.4. Pojedynczy przekrój przez zastawę Z18.....	62
Rysunek 5.5. Pojedynczy przekrój przez zastawkę Z39.....	63
Rysunek 5.6. Przykład działania operacji morfologicznej - erozji; po lewej - obiekt przed erozją, po prawej - po erozji.	66
Rysunek 5.7. Pojedynczy przekrój przez zastawkę Z26.....	69
Rysunek 5.8. Pojedynczy przekrój przez zastawkę Z16.....	71
Rysunek 5.9. Pojedynczy przekrój przez zastawkę Z55.....	72
Rysunek 6.1. Sposób działania opcji <i>Purify</i> na przykładzie zastawki Z40. Po lewej stronie znajduje się obraz 3D zwapnień, natomiast po lewej - największa grudka odseparowana za pomocą <i>Purify</i>	76

14 SPIS TABEL

Tabela 3.1. Klasyfikacja niedomykalności zastawki aortalnej (AR) u dorosłych [17]....	20
Tabela 3.2. Klasyfikacja zwężenia zastawki aortlanej [5][21].	25
Tabela 3.3. Klasyfikacja stopnia zwarczenia zastawek [7].....	31
Tabela 4.1. Parametry statystyczne wyznaczone dla złogów na podstawie liczby punktów o danej gęstości dla poszczególnych wartości poziomów szarości dla zastawek z IV serii pomiarowej.....	48
Tabela 4.2. Parametry statystyczne wyznaczone dla tkanki miękkiej na podstawie liczby punktów o danej gęstości dla poszczególnych wartości poziomów szarości dla zastawek z IV serii pomiarowej.....	50
Tabela 7.1. Klasyfikacja pacjentów do grup na podstawie wskaźnika BMI.....	79
Tabela 7.2. Choroby, na jakie cierpieli pacjenci poddani zabiegowi chirurgicznej wymiany zastawki aortalnej (AVR).....	80
Tabela 7.3. Procentowy udział pacjentów przyjmujących określoną grupę leków	81
Tabela 7.4. Odchylenia w liczbie limfocytów przy poszczególnych schorzeniach układu odpornościowego.	84
Tabela 7.5. Wartości prawidłowe limfocytów [12][28]	85
Tabela 7.6. Klasyfikacja pacjentów do 3 grup ze względu na liczbę limfocytów we krwi żyłnej	85
Tabela 7.7. Korelacja między cukrzycą a wiekiem, płcią oraz wskaźnikiem BMI pacjentów.....	88
Tabela 7.8. Powiązanie między parametrami demograficznymi a wynikami badań klinicznych pacjentów	89
Tabela 9.1. Zestawienie wartości progów binaryzacji dla wszystkich zastawek.....	100

Tabela 9.2. Parametry statystyczne wyznaczone dla złogów wapiennych zastawek z IV serii pomiarowej, wyznaczone na podstawie liczby punktów o danej gęstości dla poszczególnych wartości poziomów szarości.	101
Tabela 9.3. Parametry statystyczne wyznaczone dla złogów wapiennych zastawek z IV serii pomiarowej, wyznaczone na podstawie liczby punktów o danej jasności.....	102
Tabela 9.4. Wyniki otrzymane dla złogów wapiennych podczas analizy ilościowej płatków półksiężycowatych z IV serii pomiarowej.....	103
Tabela 9.5. Zawartość procentowa złogów w każdej grupie zastawek.....	103
Tabela 9.6. Zawartość procentowa frakcji ciężkiej złogów w każdej grupie zastawek	104
Tabela 9.7. Średni rozmiar grudki w każdej grupie zastawek	104
Tabela 9.8. Pofałdowanie zastawek w każdej grupie	104
Tabela 9.9. Objętość zastawki w każdej grupie.....	104
Tabela 9.10. Wybrane wartości liczbowe opisujące zastawki aortalne, wyznaczone na podstawie obrazów mikrotomograficznych po zastosowaniu opcji <i>Purify</i>	105
Tabela 9.11. Współczynnik korelacji rang Spearmana dla danych demograficznych oraz parametrów morfologicznych złogów (cz.1).....	107
Tabela 9.12. Współczynnik korelacji rang Spearmana dla danych demograficznych oraz parametrów morfologicznych złogów (cz.2).....	107
Tabela 9.13. Współczynnik korelacji rang Spearmana dla wyników badań morfologicznych oraz parametrów morfologicznych złogów (cz.1).....	108
Tabela 9.14. Współczynnik korelacji rang Spearmana dla wyników badań morfologicznych oraz parametrów morfologicznych złogów (cz.2).....	108
Tabela 9.15. Współczynnik korelacji rang Spearmana dla wyników badań immunologicznych oraz parametrów morfologicznych złogów	109
Tabela 9.16. Współczynnik korelacji rang Spearmana dla wyników badań echokardiograficznych oraz parametrów morfologicznych złogów (cz.1)	109

Tabela 9.17. Współczynnik korelacji rang Spearmana dla wyników badań echokardiograficznych oraz parametrów morfologicznych złogów (cz.2)	110
Tabela 9.18. Wyniki testu Shapiro-Wilka dla badanych zmiennych	111
Tabela 9.19. Korelacja między zawartością procentową złogów a danymi klinicznymi - Spearmana i Pearsona (cz.1)	112
Tabela 9.20. Korelacja między zawartością procentową złogów a danymi klinicznymi - Spearmana i Pearsona (cz.2)	112

15 SPIS WYKRESÓW

Wykres 3.1. Wykres zbiorczy średniej wartości histogramów gęstości złogów wapiennych (granatowa linia) dla płatków zastawek aortalnych z II i III serii pomiarowej (po odrzuceniu kilku próbek wyraźnie odbiegających od średniej) wraz z zaznaczonym obszarem błędu (czerwona, przerywana linia).....	36
Wykres 3.2. Wykres zbiorczy średniej wartości histogramów gęstości tkanki miękkiej płatków półksiężycowatych (granatowa linia) dla płatków zastawek aortalnych z II i III serii pomiarowej (po odrzuceniu kilku próbek wyraźnie odbiegających od średniej) wraz z zaznaczonym obszarem błędu (czerwona, przerywana linia).	36
Wykres 3.3. Analiza statystyczna histogramów gęstości dla złogów wapiennych.....	37
Wykres 3.4. Analiza statystyczna histogramów gęstości dla tkanki miękkiej płatków zastawek aortalnych.....	38
Wykres 3.5. Zawartość procentowa złogów wapiennych w płatkach zastawek aortalnych.....	39
Wykres 3.6. Zawartość procentowa frakcji ciężkiej złogów wapiennych w płatkach zastawek aortalnych.....	39
Wykres 3.7. Wykres zbiorczy średniej wartości rozkładu wielkości pojedynczych grudek złogów dla każdej zastawki z serii I-III.	40
Wykres 3.8. Wykres zbiorczy średniej wartości rozkładu wielkości pojedynczych grudek złogów o dużej gęstości dla każdej zastawki z serii I-III.	41
Wykres 4.1. Wykres zbiorczy histogramów złogów dla zastawek z IV serii (Z49, Z50, Z52-Z61)	43
Wykres 4.2. Wykres zbiorczy obrazujący średnią wartość gęstości złogów pochodząca ze złożenia ich histogramów gęstości (po odrzuceniu zastawki Z53) wraz z zaznaczonym obszarem niepewności (przerywane linie) dla zastawek z IV serii.....	44
Wykres 4.3. Wykres zbiorczy histogramów tkanki miękkiej dla zastawek z IV serii (Z49-Z50, Z52-Z61).....	45

Wykres 4.4. Wykres zbiorczy obrazujący średnią wartość gęstości tkanki miękkiej pochodząącą ze złożenia ich histogramów gęstości (po odrzuceniu zastawki Z53) wraz z zaznaczonym obszarem niepewności (przerywane linie) dla zastawek z IV serii	46
Wykres 4.5. Analiza statystyczna złogów wapiennych dla zastawek z IV serii	47
Wykres 4.6. Analiza statystyczna tkanki miękkiej dla zastawek z IV serii.....	49
Wykres 4.7. Zawartość procentowa złogów w płatkach zastawek aortalnych z IV serii	51
Wykres 4.8. Rozkład wielkości grudek dla zastawek z IV serii.....	51
Wykres 4.9. Uśredniony rozkład wielkości grudek dla zastawek z IV serii pomiarowej	52
Wykres 4.10. Zawartość procentowa frakcji ciężkiej złogów w zastawce (IV seria pomiarowa)	53
Wykres 4.11. Zawartość procentowa frakcji ciężkiej złogów w ich całej objętości (IV seria pomiarowa).....	53
Wykres 4.12. Zbiorczy wykres rozkładu wielkości grudek dla zastawek z IV serii	54
Wykres 4.13. Wykres średniej wartości rozkładu wielkości frakcji ciężkiej grudek dla zastawek z IV serii	55
Wykres 5.1. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.03 mm dla zastawki Z12.....	59
Wykres 5.2. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.3 mm dla zastawki Z12	60
Wykres 5.3. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.03 mm dla zastawki Z39.....	64
Wykres 5.4. Zależność liczby zliczonych grudek od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z26.....	70
Wykres 5.5. Zależność liczby zliczonych grudek od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z16.....	71
Wykres 5.6. Zależność liczby zliczonych grudek od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z55	73

Wykres 7.1. Udział procentowy pacjentów cierpiących na dane schorzenie/ przyjmujących określone leki/ zaklasyfikowanych według wskaźnika BMI.....	81
Wykres 10.1. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.01 mm dla zastawki Z12	113
Wykres 10.2. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.03 mm dla zastawki Z12	113
Wykres 10.3. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.05 mm dla zastawki Z12	114
Wykres 10.4. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.1 mm dla zastawki Z12	114
Wykres 10.5. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.3 mm dla zastawki Z12	115
Wykres 10.6. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.5 mm dla zastawki Z12	115
Wykres 10.7. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 1 mm dla zastawki Z12.....	116
Wykres 10.8. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.01 mm dla zastawki Z17	116
Wykres 10.9. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.03 mm dla zastawki Z17	117
Wykres 10.10. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.05 mm dla zastawki Z17	117
Wykres 10.11. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.1 mm dla zastawki Z17	118
Wykres 10.12. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.3 mm dla zastawki Z17	118
Wykres 10.13. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.5 mm dla zastawki Z17	119

Wykres 10.14. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 1 mm dla zastawki Z17	119
Wykres 10.15. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.01 mm dla zastawki Z18.....	120
Wykres 10.16. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.03 mm dla zastawki Z18.....	120
Wykres 10.17. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.05 mm dla zastawki Z18.....	121
Wykres 10.18. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.1 mm dla zastawki Z18	121
Wykres 10.19. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.3 mm dla zastawki Z18	122
Wykres 10.20. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.5 mm dla zastawki Z18	122
Wykres 10.21. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 1 mm dla zastawki Z18	123
Wykres 10.22. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.01 mm dla zastawki Z39.....	123
Wykres 10.23. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.03 mm dla zastawki Z39.....	124
Wykres 10.24. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.05 mm dla zastawki Z39.....	124
Wykres 10.25. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.1 mm dla zastawki Z39	125
Wykres 10.26. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.3 mm dla zastawki Z39	125
Wykres 10.27. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 0.5 mm dla zastawki Z39	126

Wykres 10.28. Rozkład gęstości złogów wokół punktu centralnego w obszarze kuli o promieniu 1 mm dla zastawki Z39.....	126
Wykres 10.29. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z20	127
Wykres 10.30. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z26	127
Wykres 10.31. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z29	128
Wykres 10.32. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z30	128
Wykres 10.33. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z40	129
Wykres 10.34. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z41	129
Wykres 10.35. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z49	130
Wykres 10.36. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z12	130
Wykres 10.37. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z13	131
Wykres 10.38. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z16	131
Wykres 10.39. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z21	132
Wykres 10.40. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z22	132
Wykres 10.41. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z23	133

Wykres 10.42. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z24	133
Wykres 10.43. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z25	134
Wykres 10.44. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z28	134
Wykres 10.45. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z31	135
Wykres 10.46. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z32	135
Wykres 10.47. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z33	136
Wykres 10.48. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z36	136
Wykres 10.49. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z37	137
Wykres 10.50. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z39	137
Wykres 10.51. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z42	138
Wykres 10.52. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z46	138
Wykres 10.53. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z50	139
Wykres 10.54. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z52	139
Wykres 10.55. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z53	140

Wykres 10.56. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z57	140
Wykres 10.57. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z58	141
Wykres 10.58. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z59	141
Wykres 10.59. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z60	142
Wykres 10.60. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z61	142
Wykres 10.61. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z44	143
Wykres 10.62. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z47	143
Wykres 10.63. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z54	144
Wykres 10.64. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z55	144
Wykres 10.65. Wykres zależności liczby zliczonych obiektów od ilości wykonanych operacji erozji dla zastawki Z56	145