

INSTYTUT PODSTAWOWYCH PROBLEMÓW TECHNIKI
POLSKA AKADEMIA NAUK

Rozprawa doktorska

**Urządzenie do chłodzenia narządów
podczas zabiegów transplantacji**

mgr inż. Ilona Maria Korczak-Cegielska

Promotor: dr hab. BARBARA GAMBIN, prof. IPPT PAN

Promotor pomocniczy: dr Klaudia Brodaczewska, Konmex Sp. z o.o.

Warszawa 2021

Niniejsza Rozprawa doktorska została zrealizowana dzięki wsparciu stypendialnemu ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w programie „**Doktorat wdrożeniowy**” (Na podstawie art. 26 ust. 3g ustawy z dnia 30 kwietnia 2010 r. o zasadach finansowania nauki (Dz. U. z 2016 r. poz. 2045, z późn. zm.) oraz § 2 rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 28 kwietnia 2017 r. w sprawie szczegółowych kryteriów i trybu przyznawania, przekazywania oraz rozliczania środków finansowych na naukę, trybu wyznaczania opiekuna pomocniczego i przyznawania stypendium doktoranckiego w ramach programu „Doktorat wdrożeniowy” (Dz. U. poz. 873)).



Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego

Podziękowania

*Składam serdeczne podziękowania wszystkim,
którzy byli obecni i wspierali mnie w czasie pracy nad doktoratem,*

*Nade wszystko dziękuję
Dr hab. Barbarze Gambin, prof. IPPT PAN
bez której pomocy i zaangażowania ta praca by nie powstała,*

*Firmie Konmex Sp. z o.o.
za możliwość realizacji badań w ramach programu "Doktorat wdrożeniowy"
oraz Dr Klaudii Brodaczewskiej za opiekę z ramienia firmy,*

*Pracownikom Zakładu Ultradźwięków IPPT PAN
za gotowość do pomocy i wsparcie merytoryczne w szczególności*

*Dr Eleonorze Kruglenko,
Dr inż. Wojciechowi Secomskiemu,
Prof. dr hab. inż. Andrzejowi Nowickiemu,*

*Rodzinie, Przyjaciółom i Ukochanemu,
za wiarę i wsparcie.*

Oświadczenie autora pracy

Świadoma odpowiedzialności prawnej oświadczam, że niniejsza praca doktorska została napisana przez mnie samodzielnie pod kierunkiem Opiekuna naukowego oraz Opiekuna przemysłowego i nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny z obowiązującymi przepisami.

Oświadczam również, że przedstawiona praca nie była wcześniej przedmiotem procedur związanych z uzyskaniem stopnia naukowego.

Oświadczam ponadto, że niniejsza wersja pracy jest identyczna z załączoną wersją elektroniczną.

Data

.....

Podpis autora pracy

.....

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW I SYMBOLI

CHO - chirurgia otwarta

CHR - chirurgia robotyczna

ECHA – Europejska Agencja Chemikaliów

EtO - tlenek etylenu

IRI - uszkodzenie niedokrwienne / reperfuzyjne

MDR - Rozporządzenie w sprawie wyrobów medycznych

MES - metoda elementów skończonych

NaCl - chlorek sodu

NCH - nakładka chłodząca

NCHN - nakładka chłodząca nerkę

PP - polipropylen

PVC - poli(chlorek winylu)

REACH - rejestracja, ocena, autoryzacja, ograniczenie chemikaliów

SCHN - system chłodzenia nerki

SVHC - substancje wzbudzające szczególnie duże obawy

SZJ - system zarządzania jakością

UE - Unia Europejska

STRESZCZENIE

Głównym celem pracy było opracowanie nowatorskiego urządzenia chroniącego narządy w czasie zabiegu transplantacji przed skutkami tzw. drugiego ciepłego niedokrwienia. Urządzenie musiało być całkowicie nowym rozwiązaniem technicznym, tanim i możliwym do wdrożenia. Niezależnie, to urządzenie medyczne jako pracujące bezpośrednio w kontakcie z ludzkimi tkankami wewnętrznymi, a także z powodu planowanego wykorzystywania go w czasie operacji laparoskopowych, musiało spełniać szereg dodatkowych restrykcyjnych wymogów. W projekcie ograniczono się do urządzenia dedykowanego do narządu nerki, zwanego dalej Nakładką Chłodzącą Nerkę, NCHN. Badania naukowe przeprowadzone w pracy doktorskiej spełniły istotną rolę zarówno w projektowaniu urządzenia jak i w weryfikacji założeń projektowych. Praca naukowo-badawcza składała się z dwóch równoległych nurtów. Pierwszy nurt obejmował prace doświadczalne na ludzkich komórkach hodowanych *in vitro* i na narządach świńskiej nerki *ex vivo*. Wyniki tych badań potwierdziły po pierwsze, że utrzymywanie komórek w niskiej temperaturze oraz jej kontrolowany wzrost wpływa istotnie na wyższą przeżywalność komórek. Po drugie, badania wykorzystujące świńskie nerki *ex vivo*, pozwoliły na walidację skuteczności pracy wyprodukowanych prototypów urządzenia chłodzącego. Drugi nurt badań wykorzystał modelowanie teoretyczne i numeryczne w programie COMSOL Multiphysics do zagadnienia transportu ciepła przez przepływ płynu chłodzącego wewnątrz NCHN do opracowania ulepszonego modelu, dokładniej do określenia rozkładu przegród wewnętrznych rozbijających strumień cieczy chłodzącej, a także pozwolił na oszacowanie wystarczającej sprawności chłodzenia narządu w czasie operacji transplantacji. Przewidywania numeryczne pola prędkości cieczy chłodzącej porównano z danymi eksperymentalnymi wykonanymi Dopplerem 20 MHz. Wykorzystanie badań przedstawionych w doktoracie przyczyniło się do opatentowania urządzenia, które otrzymało patent amerykański. Wartość użytkową w medycynie potwierdziło użycie NCHN i walidacja jej skuteczności w czasie zabiegu transplantacji *in vivo* wykonanej przez lekarza chirurga z Hiszpanii, który był współautorem patentu.

ABSTRACT

The main purpose of the research was to develop an innovative device that protects organs during transplantation surgery against the effects of the so-called second warm ischemia. The device had to be a completely new technical solution, low-cost, and easily implementable. Moreover, it had to meet several additional restrictive requirements since it was to remain in direct contact with internal human tissues during its application, and because of its planned use during laparoscopic procedures. The project was restricted to a device dedicated for kidneys, hereinafter referred to as a kidney cooling jacket (KCJ). The research carried out in the course of the doctoral dissertation was instrumental both to designing the device and to verifying the design assumptions. The scientific and research work consisted of two parallel streams. The first stream involved experimental work on human cells grown *in vitro* and on *ex vivo* porcine kidneys. The results of these studies confirmed, firstly, that keeping cells at a low temperature with a controlled temperature increase significantly contributed to increase cell survival. Secondly, the studies using *ex vivo* porcine kidneys allowed us to validate the effectiveness of KCJ prototypes made for the research. The second stream of research used COMSOL Multiphysics software for numerical modeling of heat transfer through the coolant inside the KCJ, to develop an improved model by determining the distribution of internal partitions that break up the coolant stream. It also allowed estimating the satisfactory efficiency of organ cooling provided by KCJ in the course of transplantation surgery. The numerical prediction of the coolant velocity field was compared with the experimental data made with a 20 MHz Doppler. The research presented in the doctoral dissertation contributed to obtaining a US patent for the device. The functional value of KCJ and its efficiency was confirmed in practice during an *in vivo* transplantation procedure performed by a Spanish surgeon who co-authored the patent.

Spis treści

| | |
|---|-----|
| WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW I SYMBOLI | 8 |
| STRESZCZENIE | 9 |
| ABSTRACT | 10 |
| I. Wprowadzenie | 13 |
| II. Uzasadnienie konstrukcji nowatorskiego urządzenia do chłodzenia narządów w czasie transplantacji na tle dotychczasowych opatentowanych i komercyjnych rozwiązań | 20 |
| III. Opis prac nad projektem Nakładki Chłodzącej Nerkę, NCHN | 45 |
| IV. Badania komórkowe in vitro | 67 |
| V. Wykorzystanie modelowania numerycznego w projektowaniu formy NCHN | 79 |
| VI. Ultradźwiękowa weryfikacja doświadczalna modelu numerycznego przepływu wewnątrz ścian NCHN | 100 |
| VII. Badania ex vivo | 118 |
| VIII. Podsumowanie i wnioski dotyczące dalszych badań | 131 |
| Spis cytowanej literatury | 133 |
| Spis Rysunków | 139 |
| Spis Tabel | 144 |
| Spis Wykresów | 145 |
| Załącznik | 146 |

ROZDZIAŁ I

I. Wprowadzenie

Zasada zachowania narządów i komórek w medycynie transplantacyjnej opiera się na obserwacji, że procesy życiowe to zależne od temperatury reakcje chemiczne, których sumą jest metabolizm. Podobnie jak w przypadku kinetyki każdej reakcji chemicznej, również metabolizm można zmniejszyć poprzez obniżenie temperatury. Większość enzymów zwierząt normotermicznych wykazuje 1,5 do 2-krotny spadek aktywności metabolicznej na każde 10 °C spadku temperatury, wyłącznie z przewidywań modeli kinetycznych. Spadek temperatury od 37 do 0 °C zmniejsza metabolizm 12-13 krotnie. W związku z tym preferowaną metodą konserwacji narządów jest stosowanie obniżonych temperatur. Istnieją trzy główne techniki konserwacji narządów, które obejmują przechowywanie transplantu w chłodni statycznej, hipotermiczną perfuzję maszynową i normotermiczną perfuzję maszynową. Do chwili obecnej przechowywanie w chłodni statycznej pozostaje najczęstszym sposobem konserwacji ze względu na swoją prostotę i niższy koszt. Aktualność problemu naukowego związanego z badaniem wpływu warunków termicznych na przechowywanie narządów i metody utrzymania reżimów termicznych dyskutowano w przeglądowej pracy [Gilbo 2017]. Opisano w niej problemy związane z warunkami termicznymi przechowywania organów dzięki zewnętrznym urządzeniom sztucznej perfuzji, które są używane do zapewnienia odpowiednio niskiej temperatury i dotlenienia narządu wyjętego od dawcy, zapobiegając tym wielu komplikacjom po przeszczepie. Niestety, okazuje się, że zależność między temperaturą, a natlenieniem w konserwacji narządów jest bardziej złożona, niż sugerowałyby to prawa fizjologiczne. Zamiast jednego domyślnego standardu temperatury perfuzji / natleniania, protokoły perfuzji muszą być dostosowane do specyficznych potrzeb przeszczepów o różnej jakości. Nieodłącznym elementem procedury przeszczepienia jest to, że narząd dawcy poddawany jest zatrzymaniu przepływu krwi i niedokrwieniu podczas pobierania od dawcy, po którym następuje konserwacja, również przez chłodzenie, a następnie reperfuzyja narządu, czyli podłączenie narządu do krążenia krwi biorcy. W konsekwencji niedokrwienie / reperfuzyja powoduje znaczne uszkodzenie narządu przeznaczonego do przeszczepu z późniejszą nadmierną aktywacją odpowiedzi immunologicznej u biorcy i szkodliwym wpływem tych zjawisk, co wpływa na przyjęcie się przeszczepu. Nowe światło na możliwe szlaki związane z uszkodzeniem niedokrwienno - reperfuzyjnym (IRI jęz. angielski ischemia reperfusion injury), które działają na różnych etapach procesu dawstwa, zabiegu chirurgicznego i bezpośrednio po przeszczepie, zawiera

praca [Fernandez 2020]. Przedstawiono strategie, które łączą terapie ukierunkowane na różne ścieżki mechanistyczne w kilku punktach czasowych, aby zapobiec utracie przeszczepu w wyniku zapalenia wywołanego przez procesy niedokrwiennie - reperfuzyjne. Perfuzja narządów ex situ została wprowadzona na początku XX wieku przez Charlesa Lindbergha i Alexisa Carrela, którzy opracowali pierwszą perfuzję maszynową w celu zachowania narządów zwierzęcych, [Carrel 1938].

Jednak dopiero w 1967 roku przeszczepiono nerkę zmarłego dawcy po 17 godzinach przechowywania w niskiej temperaturze i podłączeniu do maszyny perfuzyjnej. Wiadomo, że hipotermia spowalnia metabolizm komórek, zmniejszając w ten sposób zapotrzebowanie na tlen w okresie niedokrwienia poza organizmem ludzkim. Podstawową zasadą perfuzji maszynowej jest konserwacja narządów i minimalizacja szkodliwych skutków niedokrwienia i anoksji (deficytu tlenowego), gdy narząd znajduje się poza ciałem ludzkim. Ustawienie hipotermiczne spowalnia metabolizm komórek i zmniejsza zapotrzebowanie na tlen, ale nie zapobiega procesom chemicznym, które powodują uraz niedokrwienny w okresie przechowywania. Perfuzja maszynowa została opisana w wielu pracach, a takie badania prowadzone są również obecnie w Polsce, [Tejchman 2021]. Wyjaśniono, że uszkodzenie IRI występujące po przeszczepie nerki jest złożonym procesem biochemicznym, którego wyjaśnienie wymaga jeszcze ogromu wspólnej pracy biochemików, bioinżynierów i lekarzy.

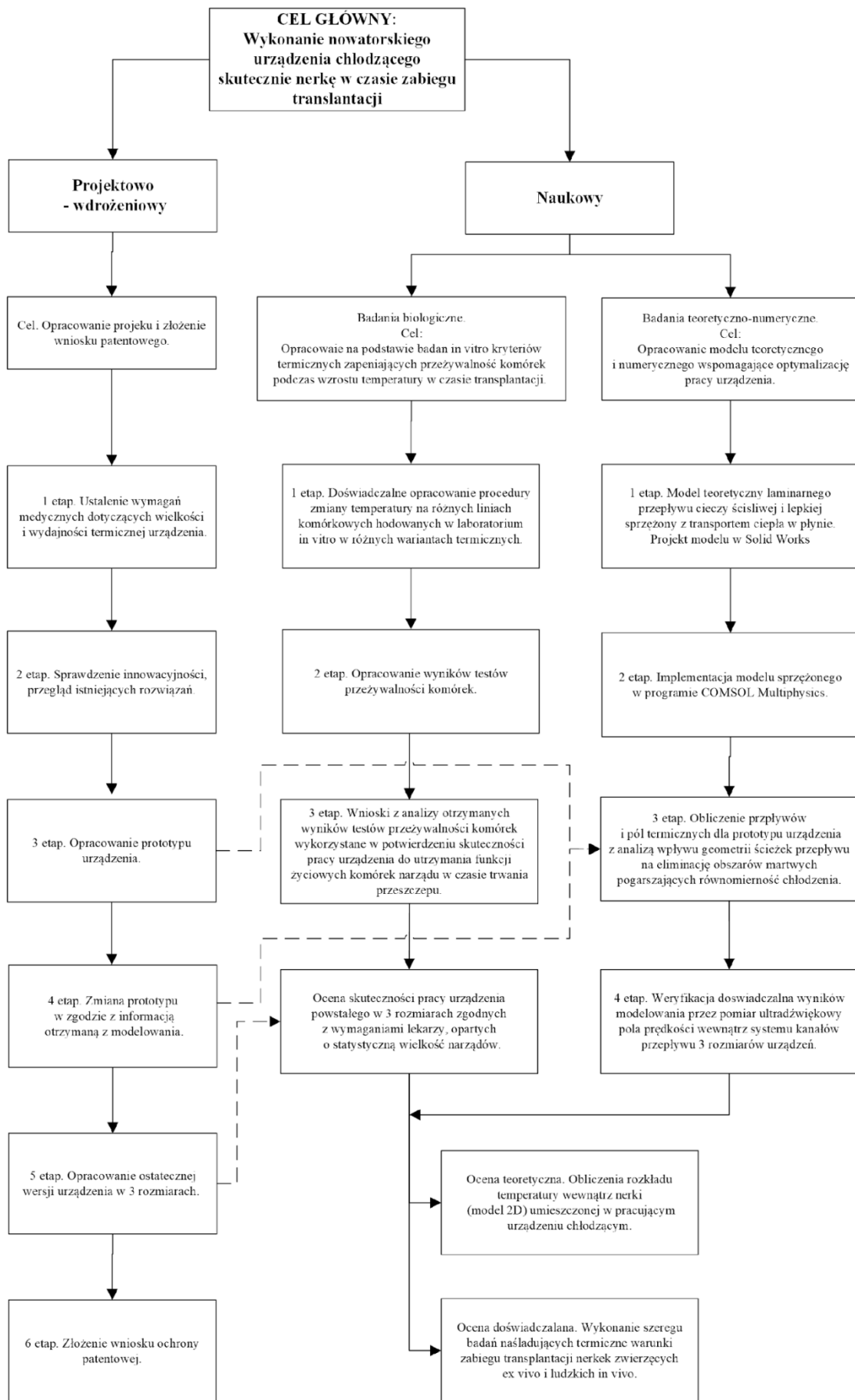
Natomiast badania nad wpływem zmian temperatury narządu w czasie transplantacji, odbywające się po wyjęciu narządu z termostatu o temperaturze 4 °C do czasu podłączenia krwioobiegu biorcy, są do chwili obecnej prowadzone. W pracy [Kamińska 2016] opisano badanie kliniczne, w którym podczas implantacji zastosowano chłodzenie lodem powierzchni nerek, aby ocenić wpływ eliminacji ciepłego niedokrwienia na funkcję przeszczepu allogenicznego, poprzez określenie zmian histologicznych i zbadanie ekspresji specyficznych genów związanych z układem immunologicznym. 23 odbiorców (grupa I) było losowo przypisanych do grupy operowanej z chłodzeniem powierzchni nerki podczas implantacji techniką worka lodowego, a pozostałych 23 biorców otrzymujących nerkę od tego samego dawcy operowano standardową techniką nie wykorzystującą chłodzenia. W trakcie zabiegu przeszczepu wykonano trzy kolejne biopsje rdzenia nerki: natychmiast po odzyskaniu narządu, po okresie zimnego niedokrwienia i po podłączeniu krążenia biorcy (czyli po reperfuzyji). Grupa operowana z chłodzeniem powierzchni wszczepianej nerki wykazała istotnie niższy wskaźnik niekorzystnych zdarzeń takich, jak opóźnienie funkcji przeszczepu i / lub ostre odrzucenie, a także wyższy wskaźnik filtracji kłębuszkowej w czternastej dobie. Głównym wnioskiem z tych badań było potwierdzenie faktu, że chłodzenie powierzchniowe

nerkę podczas zespolenia naczyniowego może zmniejszyć niektóre szkodliwe skutki aktywacji immunologicznej wynikające z IRI.

W niniejszej rozprawie opisano zarówno motywy podjęcia się opracowania nowego urządzenia do chłodzenia narządu nerki w czasie zabiegu transplantacji, zwanego dalej Nakładką Chłodzącą Nerkę - w skrócie NCHN, jak i proces opracowania tego nowego projektu. W **Rozdziałach II i III** omówiono istniejące rozwiązania techniczne podobnych urządzeń i uzasadniono potrzebę poszukiwania nowego rozwiązania. W dalszej części rozprawy opisano przeprowadzone badania pokazujące wpływ zmian temperatury na przeżywalność komórek *in vitro*, które potwierdziły biologiczny sens utrzymywania reżimu termicznego narządu w czasie operacji, **Rozdział IV**. Modelowanie teoretyczne i numeryczne przepływu płynu chłodzącego wewnątrz NCHN miało na celu wspomaganie projektowania takiego położenia przegród kierujących kierunkiem strumienia cieczy przepływającej w wymuszonym przepływie przez NCHN, które zapewnia równomierność przestrzenną przepływu, **Rozdział V**. Optymalny projekt kształtu przestrzeni, w której odbywa się przepływ, powinien wyeliminować lub zminimalizować tzw. martwe obszary, w których ruch cieczy jest zbyt słaby lub następuje zatrzymanie przepływu. Zjawisko takie zależy od właściwości fizycznych cieczy, zadanych warunków zewnętrznych wymuszających przepływ, charakterystyk geometrycznych przestrzeni, w której przepływ się odbywa i charakterystyk fizycznych warunków brzegowych na ściankach ograniczających przestrzeń przepływu. Np. ważne jest, czy ścianki zapewniają przyczepność płynu o określonej lepkości, czy też płyn się po nich przemieszcza bez oporu. Jak zostało opisane w **Rozdziale III** (projektowanie, ograniczenia i wymogi dotyczące projektu) prototyp powstał w formie, która uwzględniała większość wymagań technicznych, ale nie był celowo zaprojektowany, aby uwzględnić równomierność przepływu cieczy chłodzącej wewnątrz powstałego systemu kanałów. W modelowaniu numerycznym przepływu cieczy wewnątrz NCHN założono, że optymalny dobór geometrii przestrzeni przepływu będzie zapewniał jak najmniejszy udział procentowy obszarów, w których ciecz płynie bardzo wolno i wymiana ciepła jest nieefektywna i jednocześnie, jak najmniejszy udział procentowy obszaru, w którym ciecz płynie najszybciej. Te wymogi oznaczały, że wybrany projekt zapewnia równomierność przestrzenną wymiany ciepła w całej nakładce NCHN. Celem było, aby cała powierzchnia NCHN utrzymała skutecznie wyznaczony wzrost temperatury do granicy 15 °C w czasie jednej godziny. W takim okresie czasu narząd włożony do NCHN, przy założeniu że temperatura na zewnątrz nakładki jest zbliżona do temperatury ciała, powinien nagrzać się co najwyżej do temperatury 15 °C. Jeśli ciecz dostarczana do wewnątrz NCHN płynie z jednakową prędkością

w każdym wewnętrznym punkcie nakładki to cała jej powierzchnia jest równomiernie chłodzona, a co za tym idzie wymiana ciepła przebiega równomiernie na całej powierzchni nerki włożonej do NCHN i przylegającej do jej ścianek. Warunki termiczne powinny być stacjonarne, czyli utrzymywane są stałe warunki termiczne. Modelowanie numeryczne wykonano z powodu ograniczeń finansowych i czasowych pracy nad projektem NCHN, gdyż zastąpiło ono wykonywanie i przetestowanie dużej liczby prototypów NCHN o różnym kształcie w celu wyboru najlepszego rozwiązania kształtu nakładki NCHN. Proces sprzężenia projektowania z otrzymanymi wynikami obliczeń numerycznych przebiegał następująco. Po wyprodukowaniu pierwszego prototypu wykonano jego model geometryczny i przeprowadzono obliczenia pola przepływu metodą MES w programie COMSOL Multiphysics, **Rozdział V**, Wykorzystanie modelowania numerycznego w projektowaniu formy NCHN. Dokonano ewaluacji doświadczalnej wydajności chłodzenia wykonanego prototypu poprzez pomiar ex vivo wzrostu temperatury w wielu miejscach wewnątrz schłodzonej uprzednio świńskiej nerki umieszczonej w prototypie chłodzonej płynem NCHN. W tym doświadczeniu przepływ cieczy wewnątrz NCHN był wymuszony grawitacyjnie, a nakładkę z nerką umieszczono w warunkach termicznych imitujących operację transplantacji. NCHN spełniła rolę termicznego izolatora utrzymującego wzrost temperatury owiniętej w NCH nerki świńskiej schłodzonej do temperatury 4 °C, na poziomie dopuszczonym przez lekarzy tj. 15-20 °C w ciągu jednej godziny podczas utrzymywania temperatury otoczenia 37 °C, [Korczak 2018]. Następnie, zmieniono prototyp w zgodzie z rozwiązaniem sugerowanym przez model MES i wykonano doświadczenia termiczne z prototypem wyprodukowanym po sugestii zmiany kształtu w zgodzie z otrzymanymi wynikami z MES, uwzględniając również różny sposób chłodzenia płynu, **Rozdział VII**. Dodatkowo, przeprowadzono ewaluację doświadczalną wyników MES, które umożliwiają analizę pola przepływu wewnątrz skomplikowanego systemu kanałów NCHN. Do tego celu wykorzystano pomiary pola prędkości wykonane przepływomierzem Dopplerowskim 20 MHz. Ten przepływomierz został skonstruowany w IPPT PAN i był stosowany w badaniach przepływu krwi w naczyniach krwionośnych. Ponadto do obrazowania głównych kierunków i charakteru przepływu cieczy chłodzącej w nieregularnej przestrzeni NCHN posłużono się obrazowaniem tzw. kolorowym Dopplerem. Ewaluacja ta, **Rozdział VI**, potwierdziła, że zaproponowany model numeryczny wystarczająco dobrze opisuje działanie przepływu cieczy w NCHN, więc wykorzystano go do zaprojektowania zmian w geometrii przegród kierujących strumieniem przepływającej cieczy. W zgodzie z wynikiem obliczeń wybrano taki rozkład przegród, który zapewniał minimalizację obszarów o niższej niż średnia

prędkości przepływu i wykonano trzy rozmiary prototypów NCHN, mały - S (small), średni - M (medium) i duży - L (large). Wdrożone do produkcji i wyprodukowane nakładki wykorzystano w badaniach in vivo na ludziach, **Rozdział VII**, co traktujemy jako całościowe podsumowanie prac badawczo-rozwojowych. Poniżej przedstawiono schemat (Rysunek I.1) blokowy pracy nad urządzeniem chłodzącym narząd podczas zabiegów transplantacji.



Rysunek I.1. Schemat rozprawy doktorskiej.

ROZDZIAŁ II

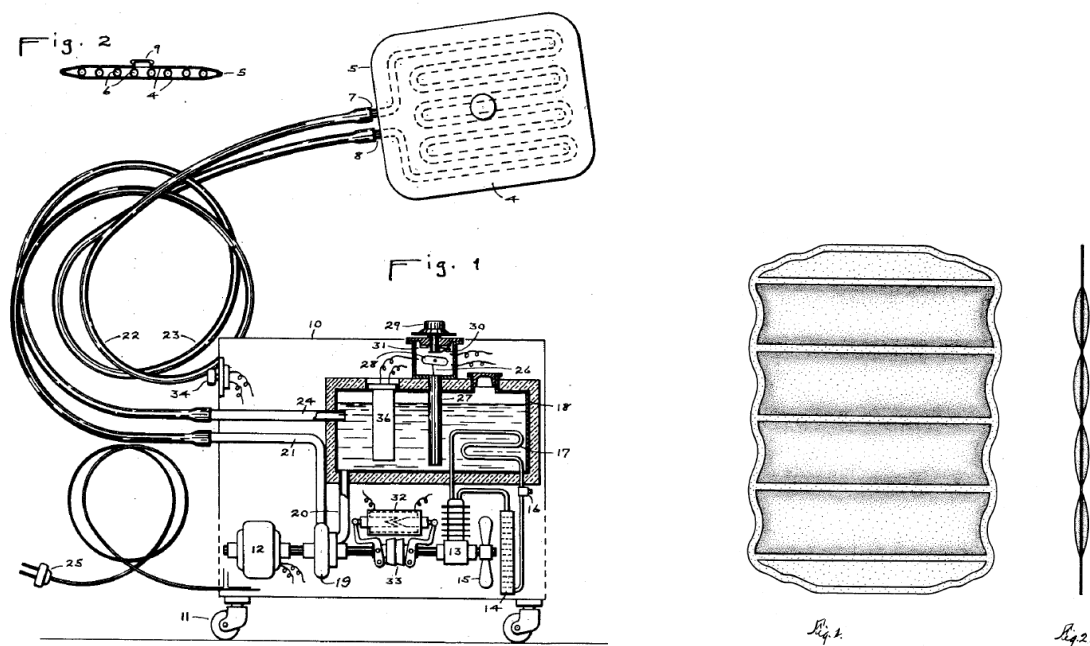
II. Uzasadnienie konstrukcji nowatorskiego urządzenia do chłodzenia narządów w czasie transplantacji na tle dotychczasowych opatentowanych i komercyjnych rozwiązań

2.1. Przegląd opatentowanych rozwiązań urządzeń chłodzących (NCHN, SCHN).

Pierwsze powszechnie udokumentowane prace nad nakładkami chłodzącymi notuje się na początek lat 30. XX wieku. Poniżej przedstawiono rozwiązania konstrukcyjne NCHN i SCHN, które przeanalizowano pod względem geometrii nakładki oraz komponentów wchodzących w skład urządzenia chłodzącego. Poniższe patenty zostały wyszukane w bazie Urzędu Patentowego Rzeczypospolitej Polskiej pod adresem <https://pl.espacenet.com/>. Podczas przeszukiwania bazy patentowej użyto takich haseł jak: *kidney cooling device, renal cooling pad, kidney cooling machine, kidney cooling jacket, organ cooling jacket, kidney cooling bag*. Przytoczone rozwiązania konstrukcyjne wpisują się w stan techniki. Niektóre z poniższych prac nie dotyczą bezpośrednio chłodzenia narządu nerki lecz opisują urządzenia chłodzące ciało lub inne narządy, takie jak np. serce. Jednak, poniższe prace zostały włączone w opis i przeanalizowane ze względu na chęć zachowania czystości patentowej projektowanej konstrukcji. Wyszukane patenty przeanalizowano według kolejności chronologicznej. Cechą wspólną analizowanych rozwiązań technicznych jest wykonanie nakładek z materiału termoplastycznego, odpornego na sterylizację. Wszystkie przeanalizowane konstrukcje wykorzystują zamknięty obieg cieczy w chłodzeniu narządów.

W urządzeniu skonstruowanym pod nazwą "Electric Ice Cap" [Hassell 1933] opatentowano konstrukcję nakładki oraz urządzenie elektryczne (Rysunek. II.1). Przedstawiona propozycja nakładki może zostać wykorzystana do chłodzenia narządów jak i ich ogrzewania, co więcej może zostać wykonana pod dedykowany kształt chłodzonego bądź ogrzewanego narządu. Urządzenie elektroniczne odpowiedzialne za utrzymanie odpowiedniej temperatury cieczy zbudowane jest z silnika (12), kompresora (13), układu chłodzącego (14) i wentylatora (15). Wymiennik ciepła przyjmuje kształt węzownicy (17) i umieszczany jest w zbiorniku cieczy chłodzącej lub ogrzewającej (18). Układ posiada zastawkę (16) uniemożliwiającą cofanie się cieczy w obiegu zamkniętym. Wartość temperatury kontrolowana jest przez termostat zainstalowany wewnątrz urządzenia elektronicznego. Podkładka zbudowana jest z szeregu kanałów, które służą do rozprowadzania cieczy chłodzącej lub ogrzewającej. Kanały ułożone są równolegle względem siebie. Nakładka w swojej budowie zawiera dwa metalowe króćce, do których

podłączone są elastyczne rurki. Połączenie między urządzeniem elektronicznym, a podkładką zostało zrealizowane za pomocą elastycznych rurek (7),(8).

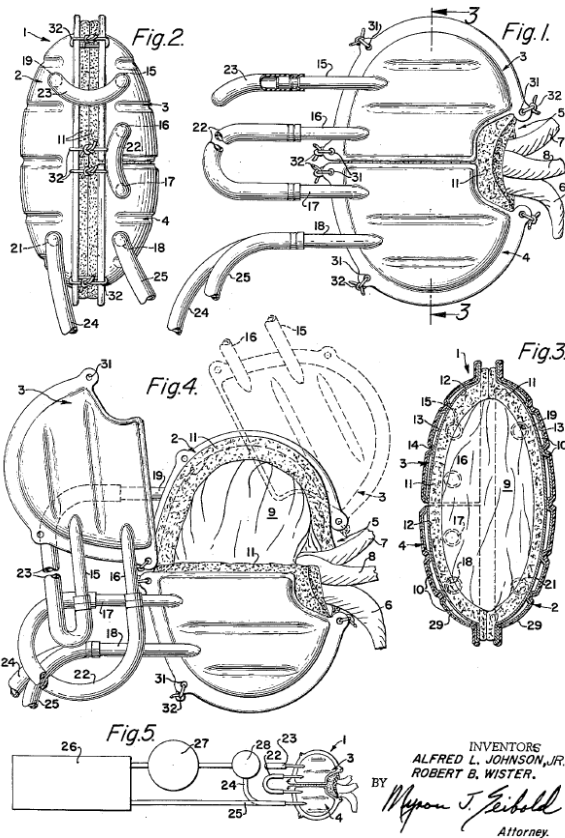


Rysunek II.1. Elektryczna czapka z lodem, Hassell 1933.

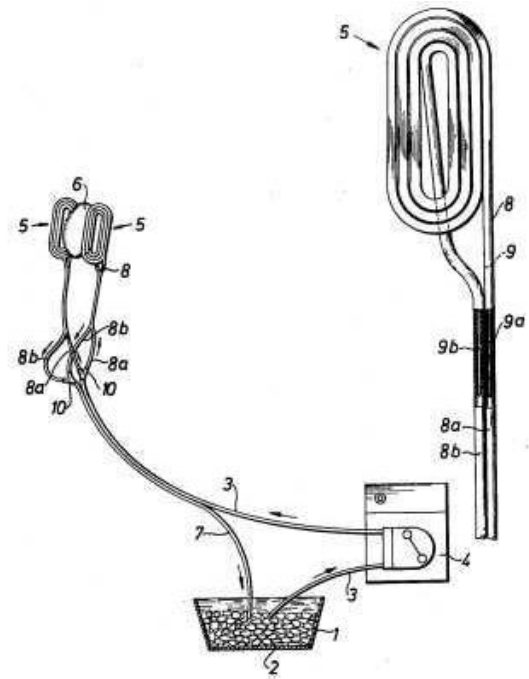
Rysunek II.2. Kombinacja grzewczo chłodzącej nakładki, Dorfman 1952.

Nakładka chłodząca może przybierać kształt poduszki jak na Rysunek II.2 gdzie widzimy równoległe ułożenie zgrzewów, a całość konstrukcji wygląda jak materac. [Dorfman 1952]. W patencie [Johnson 1963] o nazwie "Apparatus for local hypothermia" omówiono wyłącznie wynalazek przeznaczony do utrzymania niskiej temperatury nerki. Schemat urządzenia chłodniczego przedstawia Rysunek II.3. Urządzenie zbudowane jest z ochładzacza (26), pompy (27), zastawki kontrolującej szybkość przepływu (28) i nakładki na nerkę (1), (3), (4). Co ważne, pokrywa nakładki wykonana jest z cienkiej blachy ze stali nierdzewnej. Metalowe ściany nakładki połączone są spoinami lub mogą być zlutowane. Wnętrze nakładki wypełnione jest gąbką, która jest chłodzona cieczą chłodzącą. Nakładka posiada także wycięcia na naczynia krwionośne (żyłę i tętnice nerkową) oraz moczowód. Kanały przez które przepływa ciecz chłodząca ułożone są równoległe względem siebie. Rozmiar nakładki może być dostosowany do rozmiaru nerki. Cieczą chłodzącą może być woda lub roztwór glikolu z wodą. Kolejną propozycją jest urządzenie chłodzące nazwane przez twórców jako "Cooling unit" [Stenberg 1977]. To jednostka chłodząca, przystosowana do chłodzenia żywego narządu ciała, również nerki (Rysunek II.4). Urządzenie w swojej budowie zawiera dwu częściową nakładkę chłodzącą (5), system połączonych rurek (3), (7), (8), wymiennik ciepła (1), wodę z lodem (2) oraz pompę perystaltyczną (4). Nakładka chłodząca jest łatwo formowalna.

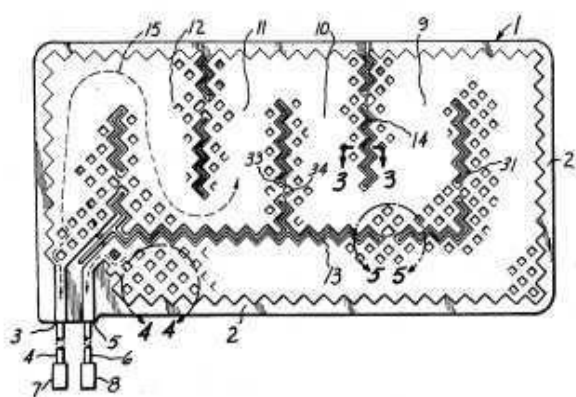
Są to zwinięte rurki (5), które otaczają powierzchnie boczne chłodzonego narządu. Wężownica może być wykonana z PVC. Nakładka chłodząca wzmocniona jest metalową konstrukcją (9a), (9b). Ciecżą chłodzącą jest woda z lodem.



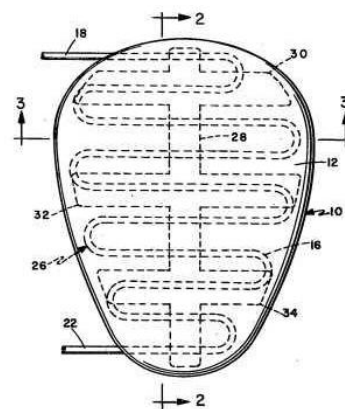
Rysunek II.3. Aparatura do miejscowej hipotermii, Johnson 1963.



Rysunek II.4. Jednostka chłodząca, Stenberg 1977.

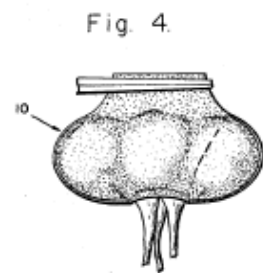
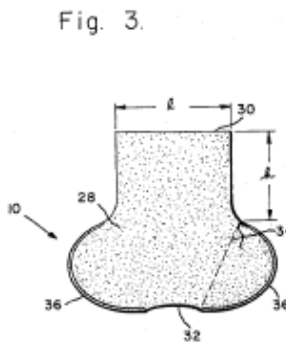
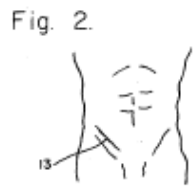
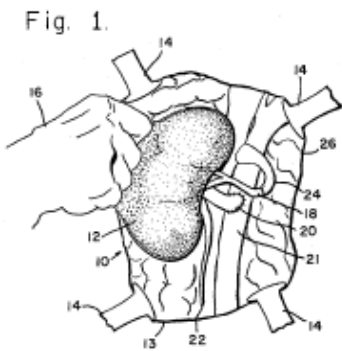
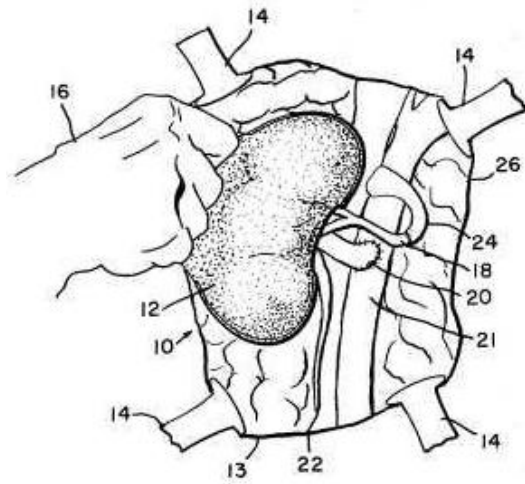


Rysunek II.5. Podkładka cyrkulacyjna płynu, Gammons 1979.

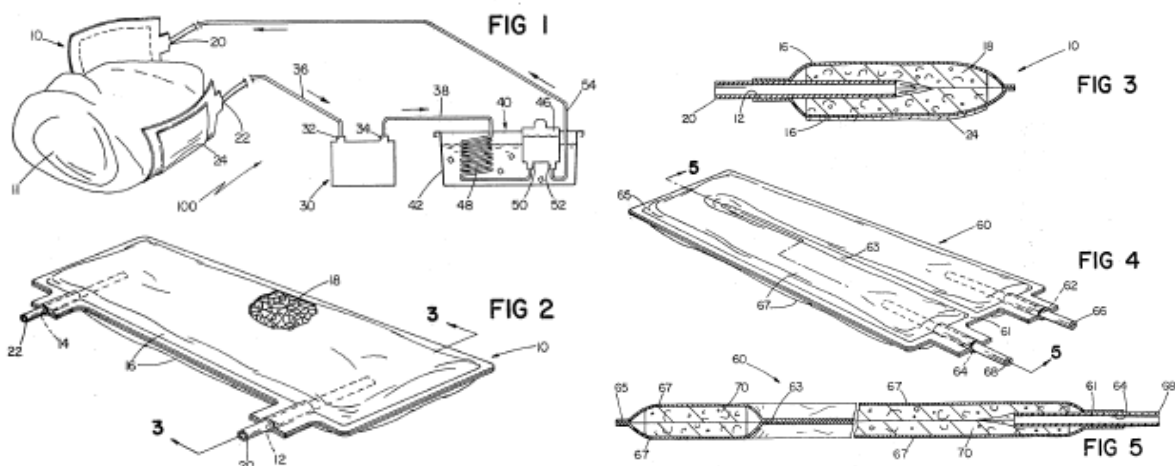


Rysunek II.6. Aparatura do miejscowej hipotermii, Daily 1979.

Rysunek II.5 przedstawia nakładkę opisaną w rozwiązaniu technicznym o nazwie "Fluid circulating pad" [Gammons 1979]. Nakładka przeznaczona jest do ochładzania ciała pacjenta jak i narządów wewnętrznych. W przedstawionym rozwiązaniu konstrukcyjnym opatentowano naprzemienny zestaw przegród, który dzieli wewnętrzną przestrzeń elastycznej nakładki. Między przegradami rozprowadzana jest ciecz chłodząca. Seria kanałów tworzy krzyżową siatkę waflową, która zapewnia dedykowany przepływ cieczy w kanałach. Wafłowe rozłożenie kanałów rozprowadzających ciecz wewnątrz NCH ma za zadanie zmniejszyć prawdopodobieństwo zablokowania przepływu cieczy wewnątrz nakładki, gdy będzie ona złożona lub owinięta wokół narządu, ciała pacjenta. Patent o nazwie "Apparatus for local hypothermia" (Rysunek II.6) [Daily 1979] przedstawia rozwiązanie techniczne, w którym nakładka ma kształt owalny. NCH przeznaczona jest głównie do chłodzenia serca, lecz autorzy konstrukcji wskazują także na możliwość wykorzystanie tego urządzenia w chłodzeniu innych narządów. Nakładka w swojej budowie posiada króćce doprowadzające (18) i odprowadzające (22) ciecz do wnętrza konstrukcji. Ścieżka rozprowadzania cieczy uformowana została przez metalowy arkusz i termoplastyczną ramę (34) z rurką (26). Całościowo nakładka jest wykonana z giętkiego materiału, który pozwala na swobodne formowanie jej kształtu i owinięcie wokół chłodzonego narządu. Zewnętrzna strona konstrukcji została zaprojektowana z dodatkową warstwą wypełnioną powietrzem, która stanowi izolację termiczną dla otaczających tkanek i narządów. Nakładka przeznaczona jest do użytku w chirurgii otwartej. Kolejny wynalazek z ochroną patentową o nazwie "Surgical sling for positioning a harvested kidney during surgical reattachment" przeznaczony jest wyłącznie do ochładzania narządu nerki [Owens 1980]. Zaprojektowana konstrukcja przyjmuje kształt chusty. Jest to elastyczny, termoizolacyjny, wodoodporny, bez żadnych wewnętrznych kanałów worek na nerkę (Rysunek II.7). Worek dopasowuje się do kształtu nerki. Konstrukcja posiada w górnej części wycięcie ułatwiające wykonanie zespolenia tętniczego, żylnego i moczowodu. Worek można zamknąć przy pomocy klipsów chirurgicznych lub innych zapinek, dzięki temu ogrzewanie nerki od innych narządów jest zahamowane. Ciecz chłodząca nerkę wprowadzana jest przez rurkę (14). System chłodzący przedstawiony w opisie "Cooling pad" autorstwa [Hood 1981] dedykowany jest do chłodzenia narządu serca. Nakładka zbudowana jest z dwóch warstw między którymi znajduje się pianka (10). W piance rozprowadzana jest ciecz chłodząca. Wewnątrz nakładki brak kanałów, jest jednolita w swojej budowie (Rysunek II.8).

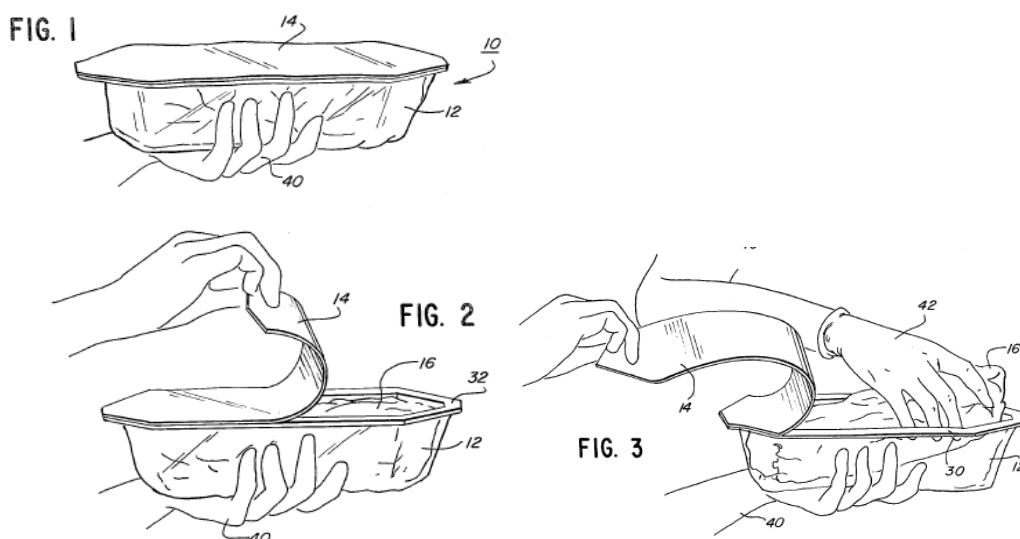


Rysunek II.7. Chusta chirurgiczna do pozycjonowania pobranej nerki podczas chirurgicznego ponownego mocowania, Owens 1980.

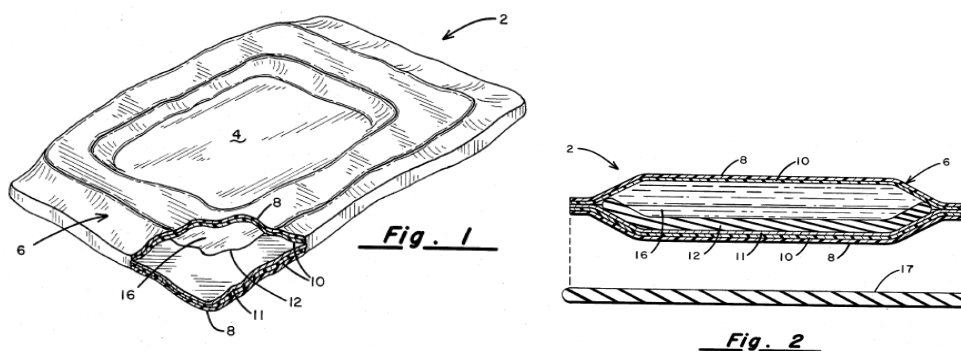


Rysunek II.8. Nakładka chłodząca, Hood 1981.

Odmienną propozycją chłodzenia narządów jest rozwiązanie przedstawione przez [Winchell 1984]. Rozwiązanie konstrukcyjne o nazwie "Sterile cooling system" (Rysunek II.9) jest jednokrotnego użytku. Składa się z dwóch pojemników. Pojemnik zewnętrzny (10), (12) wykonany jest z materiału o właściwościach nadających kształt konstrukcji, a jednocześnie umożliwiającą ręczne ściśnięcie pudełka, posiada pokrywę (14). Wieczko pokrywy jest łatwo usuwalne i szczelne. Wewnętrzny pojemnik to elastyczny worek (16). Elastyczny worek wypełniony jest płynem chłodzącym, który jest przystosowany do schłodzenia w zamrażarce. Elastyczny worek (16) może być wypełniony sterylną solą fizjologiczną. Całość zestawu jest mrożona w niskiej temperaturze. Zmrożony elastyczny worek może zostać rozkruszony. Wieczko (14) jest szczelnie zgrzewane do zewnętrznego pojemnika (32), dzięki czemu zachowana jest sterylność zestawu. Otwarcie pojemnika (12) i wyjęcie elastycznego worka (16) powinno być wykonane z zachowaniem wszelkich technik aseptycznych. Worek może zostać przecięty w polu operacyjnym przy użyciu nożyczek chirurgicznych.

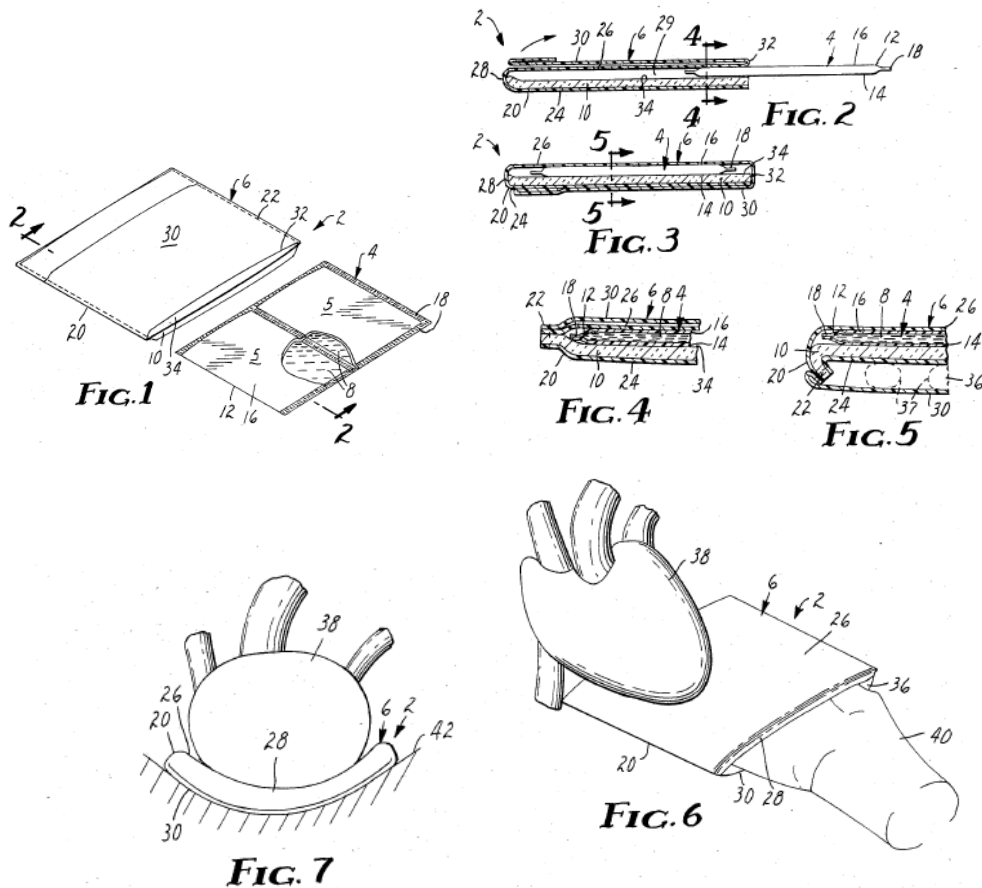


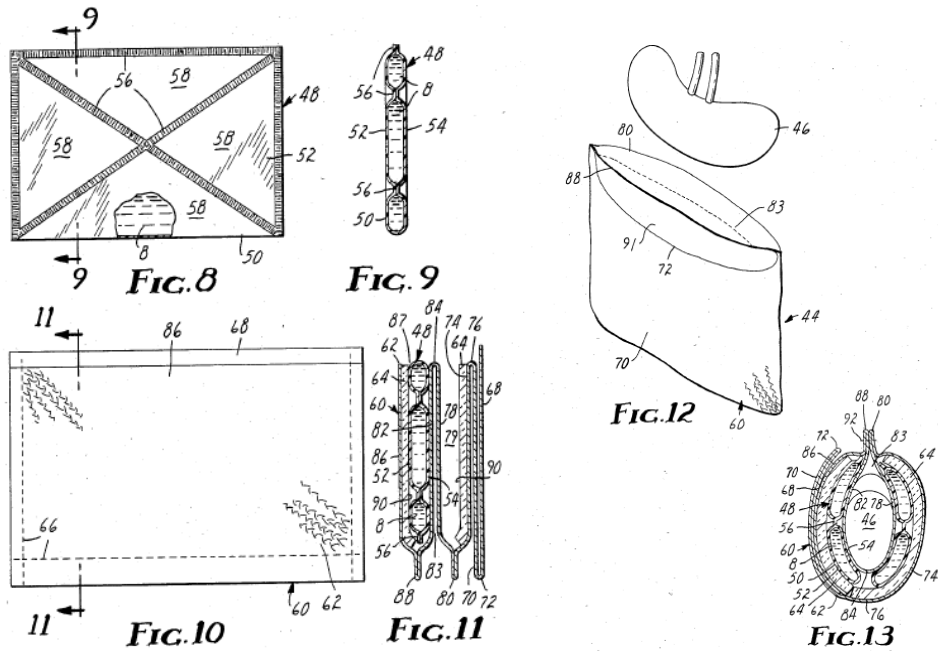
Rysunek II.9. Sterylny system chłodzenia, Winchell 1984.



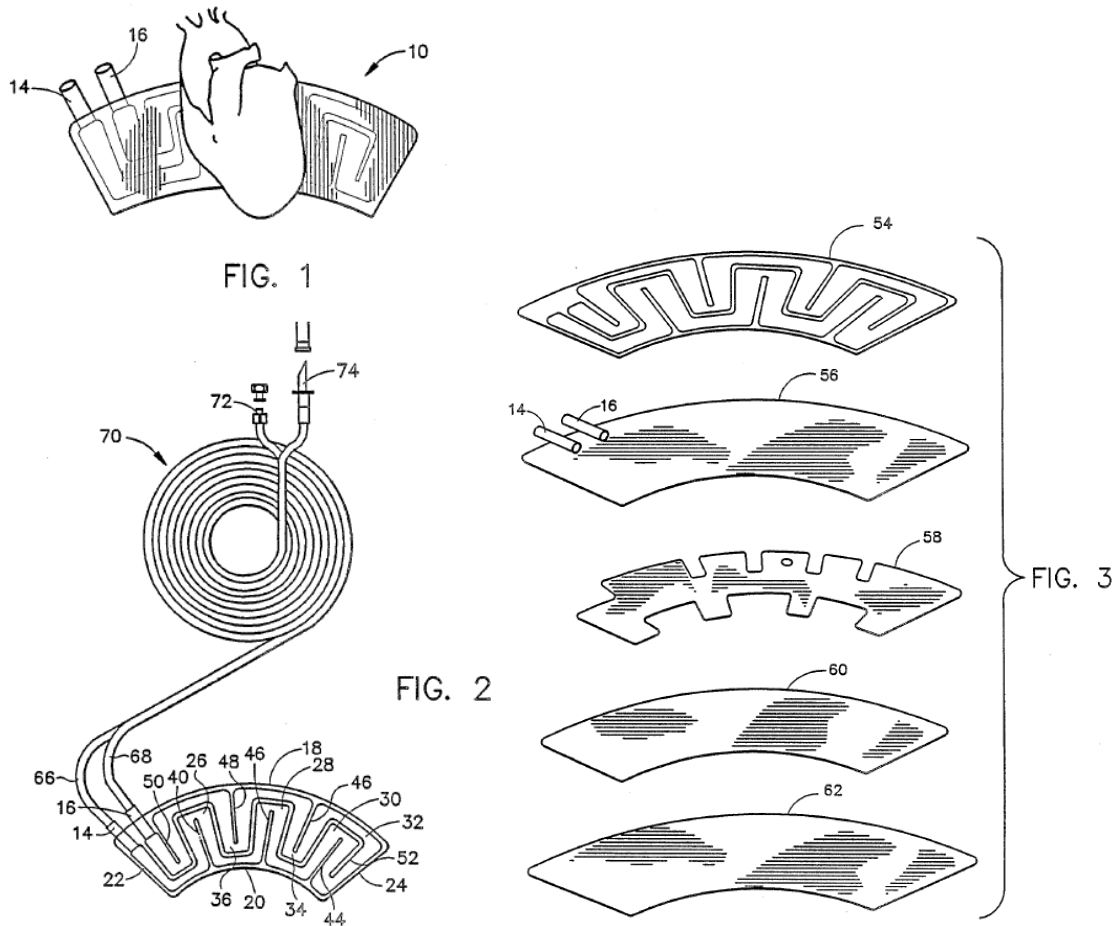
Rysunek II.10. Formowalne urządzenie chłodząco-grzewcze z kierunkowym chłodzeniem/ogrzewaniem, Beisang 1986.

W rozwiązaniu technicznym zaproponowanym przez [Beisang 1986] o nazwie "Moldable cooling / heating device with directional cooling/heating" opisano nakładkę chłodzącą z możliwością użycia jej do ogrzewania narządów. Opatentowane urządzenie (Rysunek II.10) posiada w swojej budowie ciecz chłodząca będącą mieszaniną zawierającą w swoim składzie dejonizowaną wodę, glikol propylenowy, polisacharydy, żywicę roślinną. Substancje te pozostają plastyczne w zakresie temperatur od -17 °C do +140 °C, dlatego konstrukcja pozostaje łatwo formowalna i może z łatwością przylegać do każdej struktury biologicznej. Nakładka przeznaczona jest do kierunkowego ochładzania jak i ogrzewania organizmu. Opatentowana konstrukcja ma kształt (2) prostokąta i nie posiada wewnętrznych kanałów do rozprowadzania cieczy. Propozycja urządzenia chłodzącego przedstawiona przez [Jacques 1986] o nazwie "Hypothermic protection pad" składa się z kilku warstw chłodzących. Szczegółowy opis rysunkowy wraz z przekrojami konstrukcji przedstawia (Rysunek II.11). Nakładka składa się z elastycznego worka zewnętrznego (64) oraz elastycznego worka wewnętrznego (48), którego przestrzeń wypełniona są biokompatybilną cieczą chłodzącą (8). Opatentowana nakładka przeznaczona jest do chłodzenia takich narządów jak serce oraz nerki.





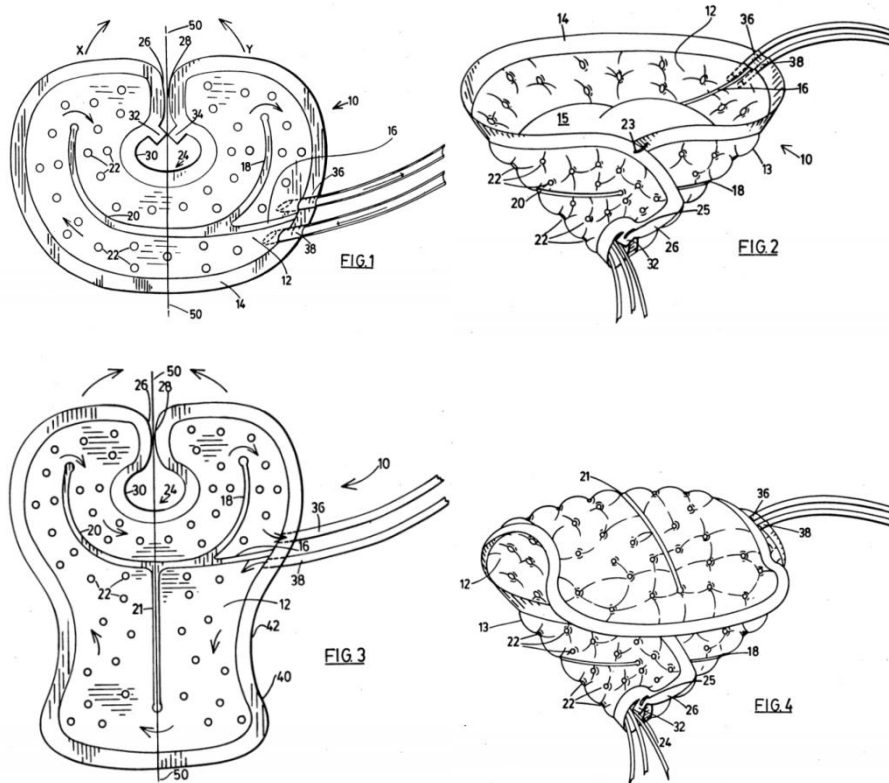
Rysunek II.11. Podkładka hipotermiczna, Jacques 1986.



Rysunek II.12. Nakładka chłodząca w kształcie łuku, Seacord 1990.

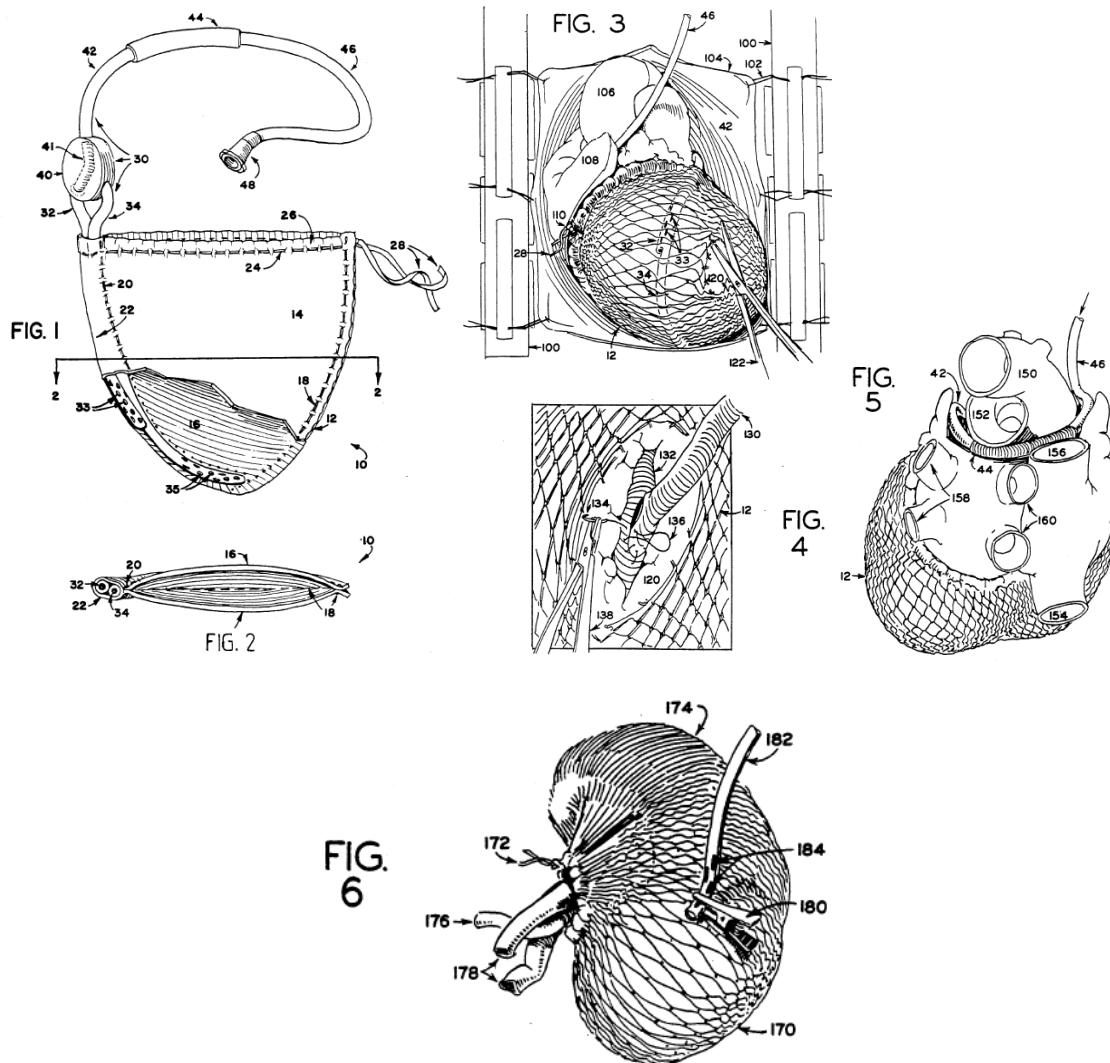
Opatentowana nakładka chłodząca "Arcuate shaped cooling jacket" składa się z pięciu warstw [Seacord 1990]. Pierwsza warstwa (54) składa się z kanałów w których rozprowadzana jest ciecz chłodząca (Rysunek II.12). Druga warstwa nakładki chłodzącej (56) zawiera w swej konstrukcji rurkę doprowadzającą ciecz (14) oraz rurkę odprowadzającą (16) ciecz z nakładki chłodzącej. Trzecia warstwa nakładki chłodzącej (58) wykonana jest z cienkiej blachy z aluminium i ma za zadanie wspomóc utrzymanie zadanego kształtu nakładki. Warstwa (60) przedstawia piankę izolacyjną. Warstwy (56), (58), (60) są jednakowych rozmiarów oraz posiadają łukowaty kształt łatwo dopasowujący się do kształtu narządu. Warstwa (62) to wierzchnia warstwa nakładki. Warstwa (62) jest zbliżona wielkością i kształtem do warstwy (54). Nakładka chłodząca dostosowana jest do podłączenia do zewnętrznego źródła chłodzenia. Chłodzenie nakładki może zostać zrealizowane poprzez elektryczny układ chłodzący. Opatentowana konstrukcja posiada przystosowanie do podłączenia do węży, które mogą transportować ciecz chłodzącą w obiegu zamkniętym. Chłodzenie może nastąpić z użyciem wspomnianego systemu elektrycznego bądź ochładzaczy utrzymujących niską temperaturę cieczy w obiegu zamkniętym. W pracy [Benak 1991] o nazwie "Kidney cooling jacket" (Rysunek II.13) zastrzeżono konstrukcję nakładki chłodząco - ogrzewającej. Konstrukcja jest przeznaczona do użycia podczas zabiegów chirurgicznych głównie na nerkach, ale i na sercu. Nakładka chłodząca jest płaskiej konstrukcji. Zbudowana jest z dwóch warstw silikonowej gumy, zgrzanej po obwodzie (16). Wewnątrz posiada kanały (22) przez które przepływa ciecz chłodząca. Cieczą chłodzącą może być woda lub chlorek sodu. Przepływ cieczy chłodzącej przez nakładkę wymuszony jest przez pompę perystaltyczną. Nakładka wyposażona jest w rurkę doprowadzającą (36) ciecz do wnętrza nakładki oraz w rurkę wyprowadzającą ciecz z nakładki (38). Przyłącza usytuowano, tak by zminimalizować interferencję z chirurgiem lub chirurgami w polu operacyjnym. Opis patentowy zawiera zastrzeżenia dla dwóch rodzajów nakładek. Jedno z rozwiązań konstrukcyjnych (Rysunek II.13) opatula bocznie chłodzony lub ogrzewany narząd. Drugie rozwiązanie konstrukcyjne dodatkowo osłania narząd od jego górnej strony. To rozwiązanie posiada dłuższą krawędź nakładki, która może zostać zawinięta i zakryć górną część chłodzonego, ogrzewanego narządu. Opisany wynalazek uwzględnia zróżnicowanie wymiarowe narządów i może zostać wykonany w różnych rozmiarach dostosowanych do chłodzonego lub ogrzewanego narządu. W obydwóch rozwiązaniach konstrukcyjnych część nakładki można założyć na siebie, tworząc tym samym ułożenie w kształcie stożka. Nakładka uformowana w postać stożka opatula cały chłodzony, ogrzewany narząd. Nakładka

może być tak uformowana, aby naczynia krwionośne mogły wysuwać się z górnej lub dolnej powierzchni nakładki.



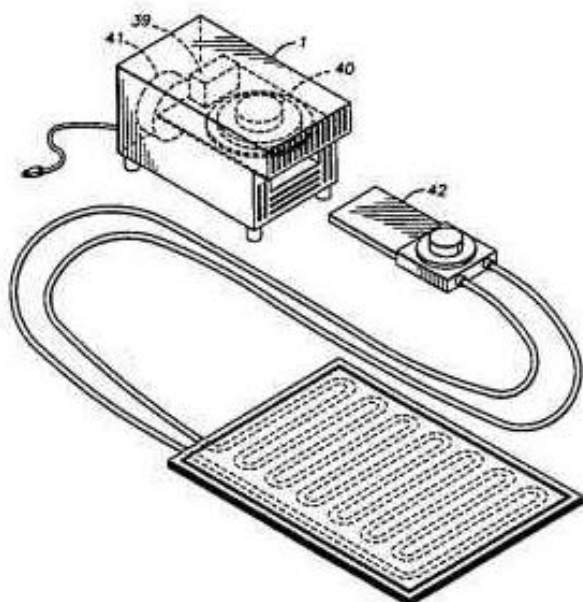
Rysunek II.13. Nakładka chłodząca nerkę, Benak 1991.

Zastrzeżoną konstrukcją zbliżoną do rozwiązania "Kidney cooling jacket" jest "Cooling net for cardiac or transplant surgery" [Cox 1992]. Niniejszy wynalazek to urządzenie do chłodzenia serca oraz nerek. Urządzenie przyjmuje kształt worka (10). Worek wykonany jest z porowatej, przepuszczającej dla wody siatki, wykonanej z hydrofilowej elastycznej tkaniny. Siatkę zakłada się i zabezpiecza wokół narządu przy pomocy wstążek (28). Do siatki chłodzącej przy pomocy cewnika wprowadza się zimny roztwór soli fizjologicznej. Zimna ciecz rozprowadzana jest w siatce, stykając się bezpośrednio z narządem i chłodząc go. Gdy płyn wycieka z siatki, jest usuwany z klatki piersiowej lub jam ciała pacjenta za pomocą przewodu ssącego. Na (Rysunek II.14) przedstawiono geometrię siatki chłodzącej oraz jej przekrój. Wspomniane rysunki pokazują użycie siatki chłodzącej na sercu oraz na nerce. Siatka opatula w całej objętości nerkę. Naczynia krwionośne oraz moczowód swobodnie mogą zostać wyprowadzone przez górne wiązanie worka oraz mogą zostać zapięte przy pomocy klipsów naczyniowych.

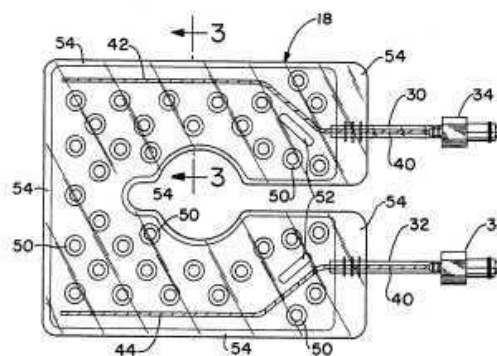


Rysunek II.14. Siatka chłodząca do zabiegów kardiochirurgicznych lub transplantacyjnych, Cox 1992.

W wynalazku "Localized heat transfer device" [Fontenot 1994] przedstawiono urządzenie (Rysunek II.15) do miejscowego ogrzewania lub chłodzenia ciała zwierzęcia lub człowieka. To zaprojektowane rozwiązanie składa się z chłodzącej, grzewczej nakładki oraz systemu elektronicznego. Jest to system modułowy, w którym ciecz grzewcza lub chłodząca krąży w hermetycznie zamkniętej ścieżce przepływu między urządzeniem grzewczym lub chłodzącym, a nakładką grzewczą lub chłodzącą. Urządzenie zbudowane jest między innymi z zasilacza (39), silnika (40), zespołu wentylatora (40), kasety chłodzącej lub grzewczej (42). Nakładka chłodząca lub grzewcza składa się z trzech warstw. Warstwa środkowa zawiera kanały w których przepływa ciecz, natomiast warstwy zewnętrzne stanowią obudowę nakładki. Warstwy sklejone są wzdłuż brzegów tworząc jednolitą strukturę. Nakładka może przybierać kształt prostokątny, lub w razie potrzeby przyjąć kształt dostosowany do chłodzenia, ogrzewania danej części ciała lub narządu.



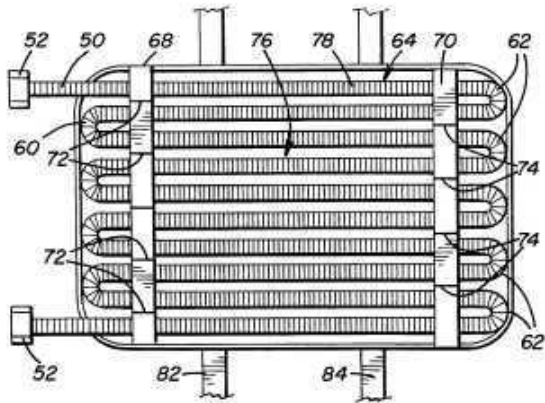
Rysunek II.15. Zlokalizowane urządzenie do wymiany ciepła, Fontenot 1994.



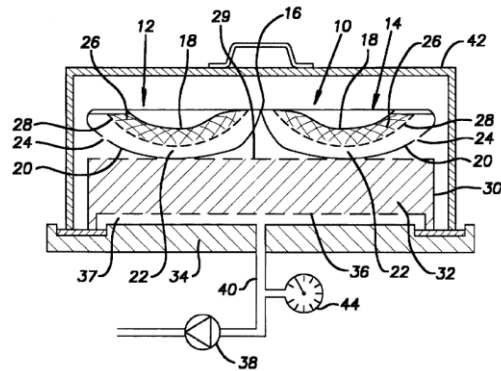
Rysunek II.16. Nakładka do terapii termicznej, Kelly 1995.

Kolejnym rozwiązaniem wpisującym się w stan techniki jest projekt [Kelly 1995] o nazwie "Thermal therapy pad". Przedmiotem wynalazku jest nakładka, która przeznaczona jest do terapii zimnem lub ciepłem (Rysunek II.16). Nakładka została zaprojektowana z dwóch membran zgrzanych po obwodzie (54). Wyposażona jest w dwa króćce doprowadzające (30) i odprowadzające (32) ciecz do nakładki. Nakładka w swojej konstrukcji posiada punktowe zgrzewy kołowe (50) oraz wewnętrzne wzmocnienie (42), (44), które umieszczone jest wewnątrz przewodu wlotowego (34), (30), (40). Wyżej wymienione wzmocnienie umieszczone jest w głąb konstrukcji, poza przewód wlotowy. Wewnętrzne wzmocnienie jest wypukłe, tak by utworzyć otwarte powierzchnie przepływu lub alternatywnie jest to spiralnie cięta rura, która umożliwia zwiększoną powierzchnię dyfuzji płynu. Kołowe zgrzewy rozbijają strumień cieczy wpływający do nakładki. Następnym rozwiązaniem nakładki chłodząco - grzewczej jest rozwiązanie o nazwie "Thermal pad for portable body heating/cooling system and method of use" [Mahawili 1996]. Przedmiotem opatentowanej konstrukcji jest nakładka chłodząco - grzewcza oraz dedykowany system chłodząco - grzewczy (Rysunek II.17). System składa się z rezerwuaru cieplej lub zimnej cieczy, rurek doprowadzających ciecz z rezerwuaru do nakładki, pompy, która zapewnia stały i ciągły przepływ między rezerwuarem a nakładką oraz odpowiednich czujników. System rurek do rozprowadzenia cieczy wewnątrz nakładki (60) może być wykonany z materiału elastycznego takiego jak nylon. Rurka rozprowadzająca ciecz ułożona jest w kształt węzownicy. Kolejne pozycje rurki są ułożone równolegle względem siebie.

Nakładka może zostać wykonana o różnej długości i szerokości. Dowolność możliwa jest również w wyborze przekroju poprzecznego rurek chłodząco - grzewczych (78). Odległość między rurkami (76) może również być dowolnie dostosowana względem potencjalnego zastosowania. Nakładka wyposażona jest w paski (70), (72), (82), (84) które mogą pomóc zamocować stabilnie nakładkę na ciele pacjenta. Rurki (52) służą do zaopatrzenia nakładki w ciecz. Nakładka przeznaczona jest do chłodzenia lub ogrzewania ciała pacjenta.



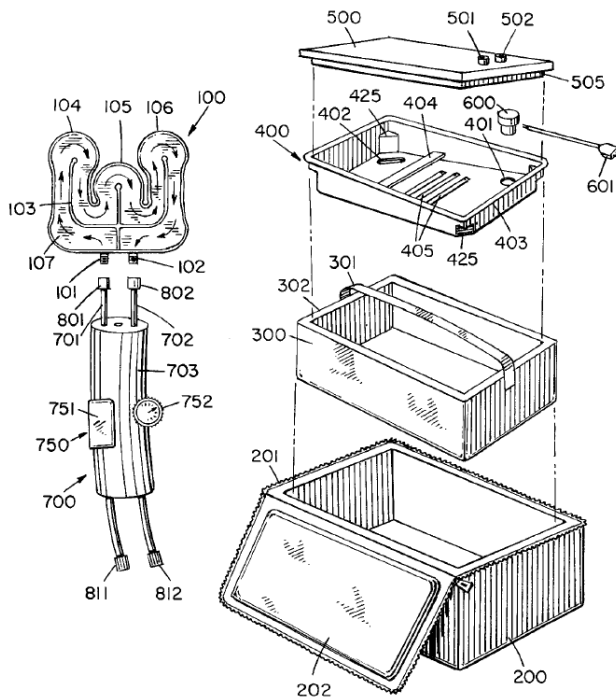
Rysunek II.15. Nakładka termiczna do przenośnego systemu ogrzewania/chłodzenia ciała i sposób użycia, Mahawili 1996.



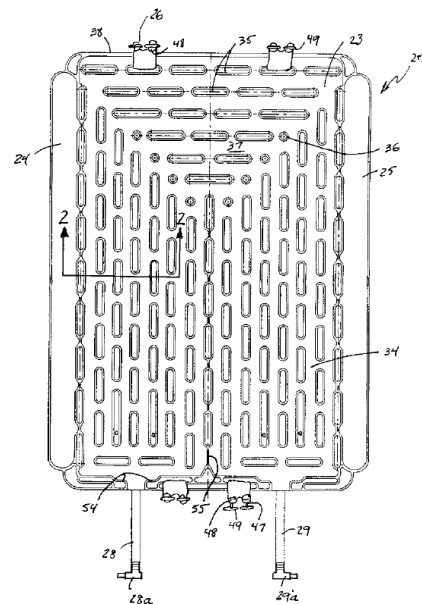
Rysunek II.16. Metoda przechowywania przeszczepu w zimnej lodówce, Desgrandchamps 1997.

Przedmiotowa publikacja [Desgrandchamps 1997] dotyczy urządzenia (Rysunek II.18) oraz metody chłodzenia i utrzymania w niskiej temperaturze przeszczepu. Nakładka (10) służy do utrzymania przeszczepu w niskiej temperaturze i zanurzana jest w pojemniku wypełnionym zmrozoną cieczą. Nakładka chłodząca (10) składa się z dwóch części (12), (14) połączonych ze sobą wokół osi obrotu (16). Każda połowka nakładki zbudowana jest z części wewnętrznej uformowanej ze sztywnej kopuły np. stali nierdzewnej (18) oraz części zewnętrznej wykonanej z tworzywa sztucznego (20). Wewnątrz pojemnika znajdują się wnęki (22) z zamrożoną cieczą chłodzącą. Zamrożona ciecz topi się pod wpływem wymiany ciepła z przeszczepianym narządem. Kilku elementowe urządzenie "Cold therapy device" opracowane przez [Herbert 1998] jest przeznaczone do terapii zimnem (Rysunek II.19). Urządzenie zawiera elastyczną, giętką nakładkę przez którą przepływa ciecz chłodząca. Nakładka chłodząca może łatwo dostosować się do ludzkiego ciała. Połączona jest z systemem pompującym ciecz. Ciecz jest przechowywana w tacy, która może zostać umieszczona w pojemniku izolacyjnym (200). Pojemnik izolacyjny wykonany jest materiału termoizolacyjnego, np. nylonu. Klatka (300) wykonana jest polipropylenu i umieszczana jest w pojemniku (200). Taca stożkowa (400) wykonana jest tworzywa sztucznego ABS (terpolimer akrylonitrylo-butadieno-styrenowy). Całość zamykana jest przykrywką wykonaną z tworzywa sztucznego (500). Nakładka chłodząca ma kształt palców. Złącza (101) i (102)

znajdują się na krawędzi podkładki (100) naprzeciw przegrody (103), która kształtuje tor ruchu cieczy (107). Ciecz krąży w nakładce w obiegu zamkniętym. Ciecz w nakładce płynie poprzez palce (104), (105), (106) zgodnie z ukształtowanym wewnątrz kanałem.



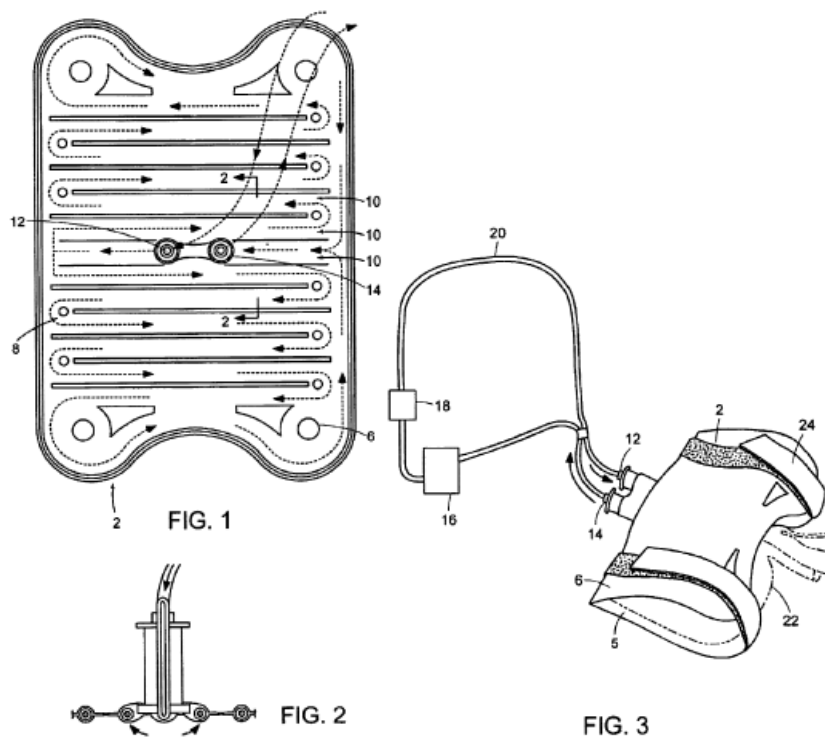
Rysunek II.17. Urządzenie do terapii zimnem, Herbert 1998.



Rysunek II.18. Kontrola temperatury ciała do stosowania jako wsparcie pacjenta, Vrzalik 2002

Urządzenie o nazwie "Body temperature control for use with patient supports" [Vrzalik 2002] to nakładka chłodząca, która przeznaczona jest do chłodzenia ciała pacjenta. Akcesorium przeznaczone jest do działania z urządzeniem elektronicznym. Nakładka posiada dwa króćce, jeden wejściowy, doprowadzający płyn (28a) oraz jeden wyjściowy, wyprowadzający płyn z nakładki (29a). Nakładka składa się z szeregu kanałów (Rysunek II.20) w których rozprowadzana jest ciecz. Nakładka ma kształt prostokąta. Zgrzewy w postaci małych prostokątów są rozmieszczone względem siebie równoległe oraz prostopadle tworząc szereg kanałów formujących tor przepływu cieczy chłodzącej. [Montgomery 2004] w patencie przedstawia urządzenie o nazwie "Transplant organ external cooling system" (Rysunek II.21). Przedmiotem opatentowanej konstrukcji jest zewnętrzny system do chłodzenia narządów podczas zabiegów transplantacji. System przeznaczony jest wyłącznie do użycia przy transplantacjach nerek. Niniejszy wynalazek wraz z dedykowaną procedurą medyczną przeznaczony jest do implantacji narządu ex vivo w ciele biorcy. Nakładka chłodząca wykonana jest na kształt prostokąta i otula narząd jak rękaw chłodzący,

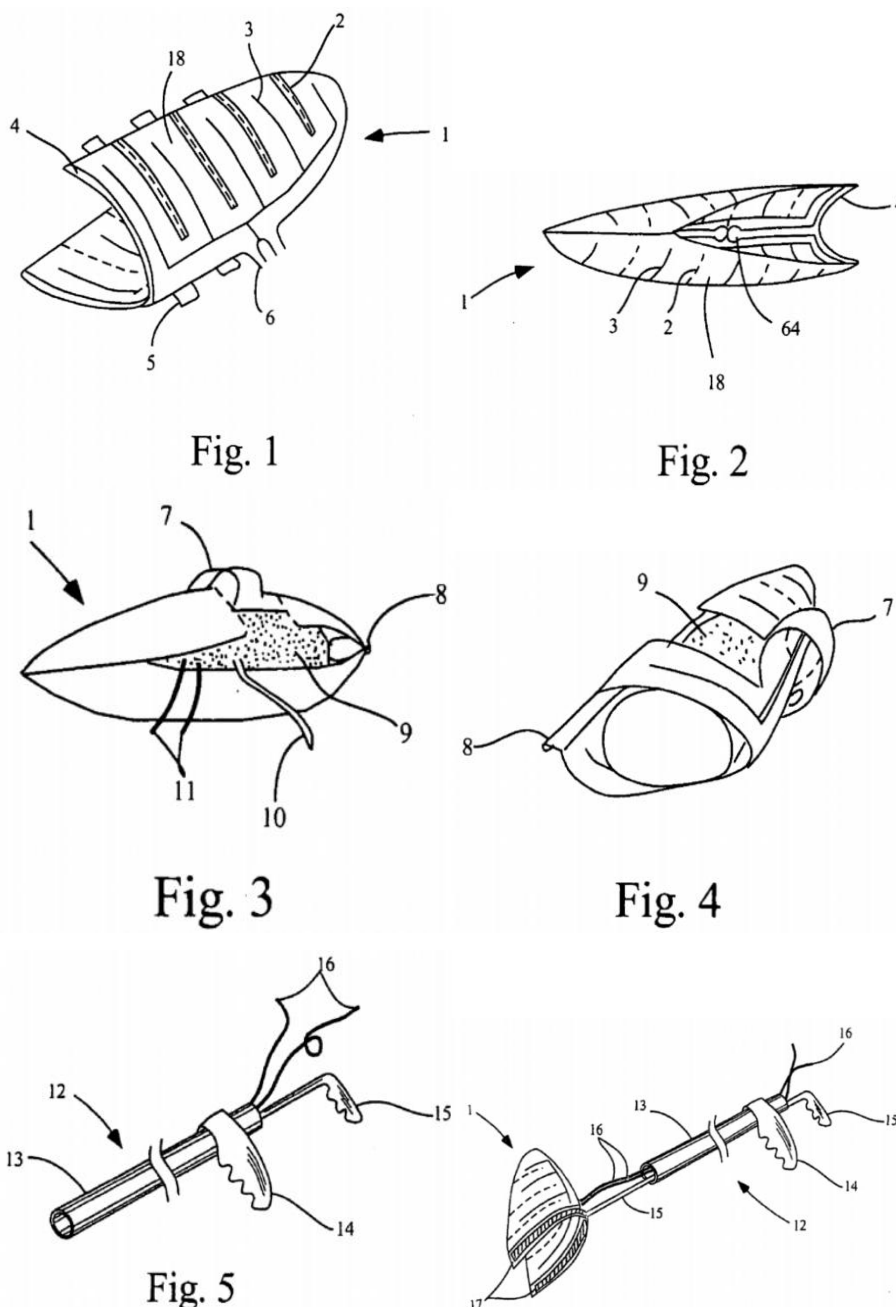
czy koc (Rysunek II.21). Nakładka chłodząca zbudowana jest z giętkiego materiału przez który przepływa sterylna ciecz chłodząca. Wewnątrz konstrukcji rozróżniamy system równoległych względem siebie kanałów rozprowadzających ciecz chłodzącą. Nakładka chłodząca może być swobodnie owinięta wokół chłodzonego transplantu. Projekt posiada wycięcia na naczynia krwionośne i moczowód. Dodatkowo wyposażony jest w paski, które pomagają w zapięciu konstrukcji na chłodzonym narzędziu. Wynalazek wyposażony jest w rurkę wejściową (12) przez którą ciecz wpływa do rękawa oraz rurkę wyjściową (14) przez którą płyn wypływa z konstrukcji. Wyżej opisana nakładka chłodząca może zostać użyta również w operacjach trzustki, serca, płuc i wątroby.



Rysunek II.19. Zewnętrzny system chłodzenia przeszczepianych narządów, Montgomery 2004.

Nerka jest bardzo ukrwionym narządem. Każde uszkodzenie narządu powoduje wypływ dużej ilości krwi. Podczas operacji laparoskopowej przepływ krwi w nerce jest często przerwany przez zaciśnięcie tętnicy nerkowej. Podczas tego czasu, gdy przepływ krwi jest zatamowany bardzo łatwo może dojść do niedokrwienia. Znaczące zmiany uszkodzenia mogą się pojawić już po 30 minutach pozbawienia przepływu krwi. Z powodu uszkodzenia niedokrwiennego procedura operacyjna musi zostać wykonana sprawnie i szybko. Aby, zredukować poziom zniszczenia niedokrwiennego nerka powinna być odpowiednio schłodzona przed operacją i w trakcie zabiegu chirurgicznego. Obniżenie temperatury narządu powoduje lokalne obniżenie tempa metabolizmu i aktywności enzymów katabolicznych,

co w konsekwencji redukuje skutki uszkodzenia narządu. Wraz z rozwojem technik medycznych jak i sprzętu medycznego wprowadzono w praktykę kliniczną procedurę laparoskopową.



Rysunek II.20. Laparoskopowe urządzenie do chłodzenia nerek, Thomas 2010.

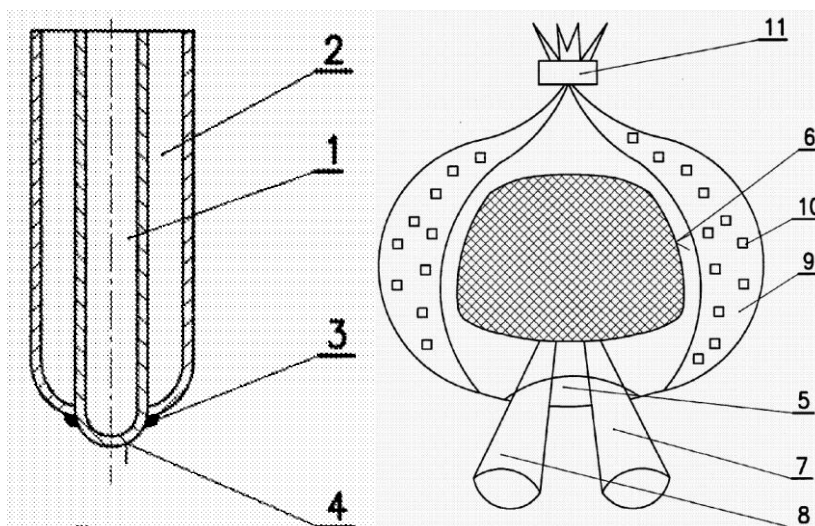
Powyższy wynalazek [Thomas 2010] obejmuje opis urządzenie do zmiany temperatury narządu nerki podczas zabiegu laparoskopowego, usuwania lub implantacji (transplantacji) nerki (Rysunek II.22). Wynalazek w istocie jest workiem o kształcie i wymiarach dostosowanych do narządu nerki, posiada mnogość kanałów i rurek wbudowanych w ścianki konstrukcji przez które pompowana jest ciecz chłodząca. Worek uwzględnia jedno lub więcej okienek, które można otworzyć w dowolnym miejscu i zyskać

dostęp do nerki. Chłodzenie narządu jest nieprzerwane podczas otwierania okienka. Rezerwuar cieczy może być zdefiniowany jako przestrzeń między ściankami kieszeni na nerkę lub może być bardziej rozbudowany i tworzyć wiele pęcherzy rozmieszczonych w dowolnie określonej geometrii lub na powierzchni kieszeni. Celem rezerwuaru cieczy jest przetrzymywanie płynu, który ma chłodzić lub ogrzewać dedykowany narząd. Wynalazek może być użyty także do utrzymania niskiej temperatury nerki podczas transportu między ośrodkami klinicznymi. Urządzenie także może pomóc w ogrzaniu przeszczepianego narządu w ciele pacjenta. Powierzchnie wynalazku mogą zostać wykonane z różnych materiałów. Część wewnętrzna przylegająca do narządu może zostać wykonana z materiału wysoce przewodzącego ciepło, zewnętrzna część nakładki może zostać wykonana z materiału izolującego ciepło, tak by nadmiernie nie chłodzić lub ogrzewać otaczających narządów w jamie ciała pacjenta. Roztwór chłodzący powinien być schłodzony blisko temperatury 0 °C. Jako cieczy chłodzącej można użyć sterylne błoto pośniegowe, czy lód. Płyn chłodzący może zostać schłodzony przy użyciu dowolnego, dostępnego na rynku urządzenia chłodniczego. Roztwór może być transportowany przez kanały nakładki przy użyciu pompy perystaltycznej. Pompa podłączona jest do węża wlotowego nakładki i daje możliwość regulacji przepływu i sterowania jego natężeniem. Szybkość i stopień chłodzenia jest uzależniony od temperatury chłodziwa, temperatury nerki, szybkości przepływu chłodziwa między kanałami, powierzchni kontaktu między nerką, a powierzchnią wynalazku, przewodnictwa ciepła między workiem a tkanką. Worek może być wykonany z poliestru, polipropylenu, polietylenu. Wynalazek dostosowany jest do użycia podczas procedury medycznej z trokarem o średnicy 12mm. Swobodne umieszczenie nerki wewnątrz worka laparoskopowego możliwe jest poprzez otwartą, górną krawędź konstrukcji. Worek można zamknąć za pomocą haczyka zapinającego, taśmy czy klipsów chirurgicznych. Wynalazek przeznaczony jest do operacji takich narządów jak nerka, serce, wątroba, płuca, pęcherz, macica, trzustka, woreczek żółciowy, naczynia krwionośne oraz narząd wzroku.

2.2. Przegląd komercyjnych rozwiązań urządzeń chłodzących (NCHN, SCHN).

Poniższe rozwiązania, które zostały wykonane w serii prototypowej bądź wdrożone do produkcji przeanalizowano w sposób chronologiczny podobnie jak prace poddane ochronie patentowej. Z literatury przedmiotu opisaną we wstępie pracy [Pupka 2009] podkreślono wagę zabezpieczenia narządów, w tym nerki, przed uszkodzeniami powstającymi podczas ciepłego niedokrwienia. W naszym przypadku rozpatrujemy fazę

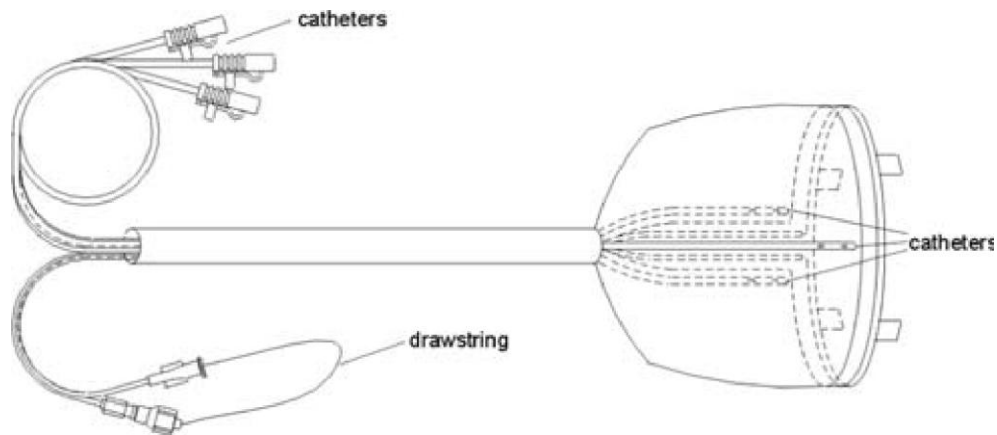
drugiego ciepłego niedokrwienia. Odpowiednie schłodzenie narządu do temperatury 4 °C zmniejsza wystąpienie ostrej martwicy cewek nerkowych, co związane jest z dalszą przeżywalnością przeszczepu. W praktyce klinicznej znane jest chłodzenie przeszczepianego narządu zimnym kompresem, najczęściej w postaci gazowych okładów. Często w celu obniżenia temperatury narząd okrywa się błotem pośniegowym. Polscy lekarze z ośrodka medycznego we Wrocławiu podjęli próbę uniknięcia drugiego okresu ciepłego niedokrwienia projektując "Sposób konserwacji przeszczepianych narządów mięsaszowych oraz pojemnik do konserwacji przeszczepianych narządów mięsaszowych" (Rysunek II.23).



Rysunek II.21. Sposób konserwacji przeszczepianych narządów mięsaszowych oraz pojemnik do konserwacji przeszczepianych narządów mięsaszowych, Pupka 2009.

Przedstawiony wynalazek składa się ze zbiornika wewnętrznego (1) w którym umieszczana jest nerka (6). Zbiornik zbudowany jest także z warstwy zewnętrznej (2) którą uzupełnia się roztworem soli fizjologicznej (9) oraz cząstkami lodu soli fizjologicznej (10). W (4) dnie zbiornika chirurg przy pomocy nożyczek chirurgicznych może wyciąć otwór (5) przez który wykona zespolenie naczyniowe. Cała zaproponowana konstrukcja jest z jednej strony otwarta we wszystkich warstwach, tak by swobodnie napełnić zbiornik solą fizjologiczną i włożyć transplantowany narząd. Otwarty zbiornik można zamknąć przy pomocy sterylnego zacisku (11). Warstwy pojemnika zbudowano z cienkich foli medycznych o grubości od 0,04 ÷ 0,06 mm. Urządzenie przeznaczone jest do bezpośredniego użycia podczas zabiegów transplantacji nerek, ale może być wykorzystane także jako pojemnik do konserwacji narządów przeznaczonych do transplantacji. Niewątpliwie, urządzenie jest proste w budowie i użytkowaniu. Przypuszczamy, że ze względu na budowę pojemnik może być tani w produkcji i łatwy w aplikacji podczas zabiegów w chirurgii otwartej. W publikacji

[Colechin 2008] przedstawiono urządzenie do chłodzenia nerek w czasie operacji laparoskopowych (Rysunek II.24).



Rysunek II.22. Laparoskopowa torba chłodząca, Colechin 2008.

Zaproponowane rozwiązanie zalecane jest do użycia przy radykalnej nefrektomii laparoskopowej. Na uwadze trzeba mieć, iż wykonywanie takich procedur z użyciem techniki laparoskopowej wiąże się również z możliwością wystąpienia ciepłego niedokrwienia. Aby, zapobiec skutkom ciepłego niedokrwienia chirurg ma około 30 minut na wykonanie niezbędnych czynności medycznych. Dlatego, zaleca się obniżyć temperaturę nerki, aby wydłużyć czas, który potrzebny jest na przeprowadzenie zabiegu. Według autorów pracy obniżenie temperatury nerki do poziomu 15 - 25 °C uchroni narząd przed skutkami ciepłego niedokrwienia. Celem przedstawionej pracy było potwierdzenie skuteczności zaprojektowanego urządzenia (worka chłodzącego) do utrzymania niskiej temperatury nerki przez 30 min w operacji laparoskopowej. Skuteczność urządzenia potwierdzono w testach na zwierzętach, testach laboratoryjnych oraz prostym modelowaniu matematycznym. Głównym zadaniem przedstawionej na (Rysunek II.24) konstrukcji jest obniżenie temperatury transplantu z brakiem naruszenia struktur wewnętrznych w jamie ciała oraz uniknięcie wypłynięcia substancji chłodzącej do wnętrza organizmu pacjenta. Zaprojektowane urządzenie składa się z dwóch warstw między, którymi przepływa ciecz chłodząca. Wyrób wyposażony jest też w cewniki, którymi wprowadzana i wyprowadzana jest ciecz chłodząca z urządzenia chłodzącego. Kompletny system chłodzący składa się z wymiennika ciepła w postaci wężownicy wykonanej ze stali nierdzewnej, pompy perystaltycznej oraz worka chłodzącego. W testach laboratoryjnych użyto ziemniaka jako odpowiednika narządu nerki. Właściwości termiczne ziemniaka są porównywalne z wartością przewodności cieplnej i ciepła właściwego narządu nerki. Rozkład temperatury zbadano przy użyciu termopar typu K. Ciecz chłodząca krążyła w obiegu zamkniętym z szybkością 250 ml/min.

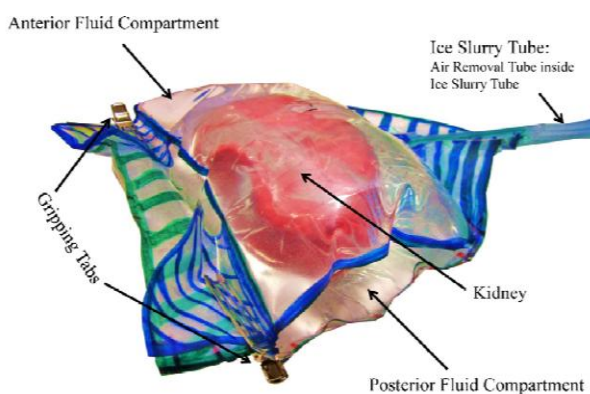
Średnia temperatura osiągnięta po 30 min schładzania w pięciu testach laboratoryjnych wyniosła 15,8 °C (zakres wyników pomiarowych od 10,8 ÷ 20,3 °C). Za pomocą teoretycznego modelu dla tego typu doświadczenia wyliczono temperaturę narządu równą 9,9 °C. Kolejno wykonano badania in vivo na 10 świnich. Eksperyment trwał 30 min. Podczas badań jedna z nerek była w stanie ciepłego niedokrwienia, podczas gdy druga nerka chłodzona była workiem chłodzącym. Urządzenie wprowadzono do organizmu świni przez 18 mm trokar. Pod koniec doświadczenia nerki poddano reperfuzji. Świnie poddano eutanazji. Nerki przekazano do dalszych badań. W doświadczeniach na zwierzętach średnia temperatura nerki wyniosła 11,4 °C, w porównaniu do obliczonej temperatury 9,8 °C w modelu teoretycznym. W pracy [Han 2012] zbadano również wydajność chłodzenia nerki w operacjach laparoskopowych z użyciem dwóch rozwiązań technicznych przeznaczonych do ochłodzenia narządu podczas operacji. Poniżej na (Rysunek II.25) przedstawiono dwa warianty rozwiązania technicznego. Jedna z propozycji to silikonowa rurka, którą owijamy narząd do schłodzenia, druga propozycja to plastikowa, dwuwarstwowa torebka w której umieszczamy nerkę.



Rysunek II.23. Klatka w postaci silikonowych rurek oraz plastikowa torebka na nerkę, Han 2012.

Ciecz chłodząca przepływa przez silikonowe rurki oraz między dwoma warstwami worka chłodzącego. Oby dwa rozwiązania techniczne przetestowano podczas operacji laparoskopowych. Badania wykonano na wieprzowym modelu zwierzęcym (4 świnie). Średnia temperatura przeszczepu z użyciem silikonowych rurek wyniosła 9 °C ± 3 °C, podczas gdy średnia temperatura przeszczepu z użyciem plastikowej torebki wyniosła 12°C ± 3°C. Doświadczenia wykazały wyższość konstrukcji i efektywniejsze chłodzenie narządu z użyciem silikonowych rurek, które owijane są wokół chłodzonego narządu na kształt klatki. Przypuszczać można, że plastikowy worek wypełniony cieczą chłodzącą nierównomiernie przylega do chłodzonego narządu. Dodatkowo, dostrzegamy wadę w rozwiązaniu

z silikonowymi rurkami. Konstrukcja ta może być uciążliwa w użyciu podczas zabiegu chirurgicznego oraz trudna do wprowadzenia przez mały otwór wykonany w operacji laparoskopii. Prototyp nakładki chłodzącej wykonany przez [Cervantes 2013] został przetestowany przez lekarzy klinicystów w badaniach in vivo na świńskim modelu zwierzęcym. Ochładzacz nerki przedstawiony na (Rysunek II.26) to worek składający się z dwóch warstw między którymi znajduje się chłodzony narząd. Rozwiązanie jest zbliżone w konstrukcji do urządzenia przedstawionego w pracy powyżej. Jednak "Kidney Cooler" posiada dodatkową warstwę wypełnioną powietrzem w celu odseparowania tkanek otaczających od warstw chłodzących. Urządzenie wykonane jest z folii uretanowej o grubości $0,051 \div 0,127$ mm i posiada boczne wypustki, za pomocą których chirurg podczas operacji może zmienić położenie urządzenia.

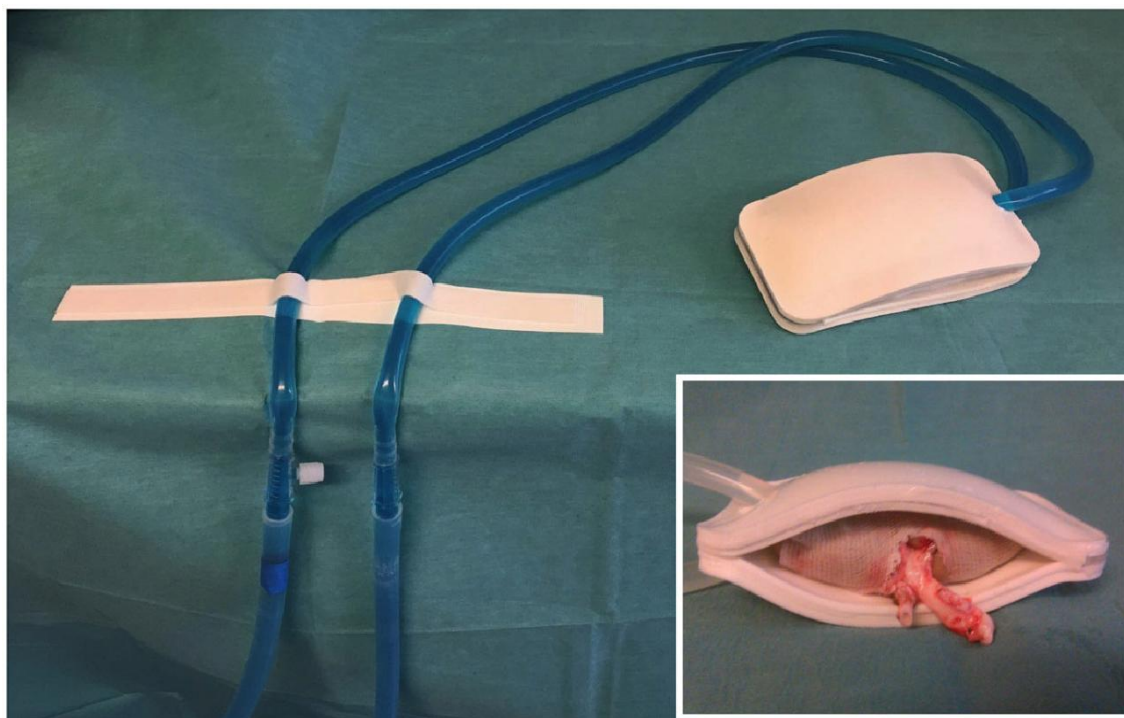


Rysunek II.24. Ochładzacz nerki, Cervantes 2013.

Cieczą chłodzącą jest woda z lodem tzw. błoto pośniegowe. Ciecz wprowadzana jest do ochładzacza za pomocą rurki. Wyniki badań wykazały, że urządzenie ma zdolność ochłodzenia rdzenia nerki do 20°C w czasie $10 \div 20$ minut. Udoskonalenia konstrukcyjne, które zostały wprowadzone w oparciu o informacje zwrotne od lekarzy chirurgów potwierdziły, że dodanie warstwy izolacyjnej w postaci powietrza zwiększa trudność w pozycjonowaniu urządzenia w polu operacyjnym, a zarazem nie wpływa znacząco na wydajność chłodzenia. Wykazano, że ochładzacz nerkowy może skutecznie wywołać łagodną hipotermię nerek o temperaturze 20°C w modelu świńskim in vivo.

W pracach publikacyjnych [Meier 2018], [Logchamp 2019] opisano propozycję rozwiązania konstrukcyjnego w postaci wodoszczelnej podwójnej osłony z silikonu otaczającej nerkę i stale perfundowanej przez system drenów wypełnionych etanolem i błękitem metylenowym o temperaturze 4°C (Rysunek II.27). Ciecz chłodząca krąży w obiegu zamkniętym

za pomocą silikonowych rurek o średnicy 7 mm każda. Grubość zewnętrzna nakładki wynosi 5 mm, a wewnętrzna 0,8 mm.



Rysunek II.25. Urządzenie chłodzące, Logchamp 2019.

Urządzenie chłodzące wykorzystano w badaniach z udziałem zwierząt (wieprzowe nerki). Zasymlowano warunki operacji z udziałem robota. Wyniki badań wskazują, iż średnia temperatura nerki wyniosła odpowiednio $6,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ oraz $4,3\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Urządzenie chłodzące zapobiega urazom niedokrwiennie - reperfuzyjnym. Jednak, w przytoczonych pracach brak odniesienia co do użyteczności urządzenia. Wątpliwość budzi konstrukcja urządzenia. Urządzenie chłodzące sprawia wrażenie konstrukcji nie podatnej na zgięcia i trudno formowalnej w polu operacyjnym. Odnotowano brak chłodzenia czy izolacji termicznej górnej powierzchni nerki. Ostatnie prace przedstawiają obecny trend w zapobieganiu skutkom niedokrwiennie - reperfuzyjnym. Praca [Torai 2019] przedstawia konstrukcję torby termoizolacyjnej (TBB=Thermal Barrier Bag). TBB wykonano z pianki polietylenowej. Torba wykonana jest z dwóch warstw między którymi znajduje się powietrze (Rysunek II.28). Zaproponowane rozwiązanie ma za zadanie tłumić przewodzenie ciepła. Wykonany eksperyment *ex vivo* na wieprzowych nerkach wykazał, że stosowanie TBB spowalnia tempo rozpadu ATP (Adenozyno-5'-trifosforan) w świeżych nerkach. Ponadto, gdy niedokrwienny model nerki wieprzowej został umieszczony w TBB, w czasie symulacji zabiegu transplantacji zaobserwowano efekt obniżania temperatury *in vivo*.



Rysunek II.26. Torba termoizolacyjna (=Thermal Barrier Bag - TBB).

W ostatniej analizowanej pracy [Khan 2021] przedstawiono dwie konstrukcje nakładek izolacyjnych. Przeprowadzono badania w których schłodzoną nerkę wieprzową do temperatury 4 °C umieszczano w kąpeli wodnej o temperaturze 37 °C. Nerka zanurzona w kąpeli znajdowała się w jednej z nakładek izolacyjnych. Wykonano dwie nakładki izolacyjne jak na Rysunek II.29.



Rysunek II.27. Nakładka izolacyjna wykonana z silikonu (biała), nakładka izolacyjna wykonana z poliuretanu (żółta), Khan 2021.

Wykonane testy potwierdziły, że nakładki mogą opóźnić okres ciepłego niedokrwienia. Czas potrzebny do osiągnięcia ciepłego niedokrwienia wynosił odpowiednio $35,2 \pm 1,4$ minuty dla silikonowej nakładki oraz $38,4 \pm 3,1$ minuty dla poliuretanowej nakładki. Nie odnotowano statystycznej różnicy między wydajnością cieplną analizowanych nakładek.

Problem wystąpienia skutków drugiego ciepłego niedokrwienia został sformułowany w każdej z powyższych prac. Dotychczas metody, które zostały komercyjnie wprowadzone na rynek obejmują najczęściej użycie lodu lub błota pośniegowego, które umieszcza się w pobliżu narządu który ma być schłodzony. Jest to częsta metoda wykorzystywana w chirurgii otwartej. Charakteryzują się najniższym kosztem, ale posiada wady. Hipotermię nerek możemy prościej i sprawniej osiągnąć w zabiegach chirurgii otwartej. Jednak wraz z rozwojem technik operacyjnych dąży się do przeprowadzania małoinwazyjnych procedur medycznych takich jak np. laparoscopia. Utrzymanie niskiej temperatury transplantu w takiego typu zabiegach nie jest proste. Podjęto próby dostarczania wokół nerki lodu w różnej postaci, rozpuszczonej zimnej soli fizjologicznej doprowadzonej do powierzchni nerek, użycia wszelakich nakładek chłodzących czy pojemników i nakładek izolacyjnych do utrzymania niskiej temperatury transplantu. Mimo, iż niektóre z prac przedstawiają wyniki efektywnego chłodzenia i utrzymania niskiej temperatury nerki podczas zabiegu chirurgicznego, wątpliwości podaje się użyteczność i łatwość w aplikacji przedstawionych systemów chłodzenia. W związku z powyższym podjęto próbę zaprojektowania efektywnego urządzenia do chłodzenia narządów podczas zabiegów transplantacji, dalej zwane NCHN i SCHN, które opisano w rozdziale III niniejszej rozprawy.

ROZDZIAŁ III

III. Opis prac nad projektem Nakładki Chłodzącej Nerkę, NCHN

Opisany w tym rozdziale projekt i proces projektowania urządzenia medycznego Nakładki Chłodzącej Nerkę (NCHN) / Systemu Chłodzącego Nerkę (SCHN) jest zgodny z przyjętymi standardami inżynierskimi i jakościowymi.

3.1. Zasięg prac projektowych.

Proces projektowania: Wymogi dotyczące bezpieczeństwa i działania projektowanego urządzenia medycznego oraz wymogi dotyczące dokumentacji technicznej wyrobu i procesu projektowania.

Projektowanie wyrobów medycznych wymaga od producenta spełnienia szeregu wymagań niezbędnych do uzyskania deklaracji zgodności UE, a tym samym możliwości oznakowania wyrobu medycznego znakiem CE. W proces oceny zgodności wlicza się ocenę dokumentacji technicznej wyrobu. Według najnowszych regulacji prawnych oceny dokumentacji technicznej należy dokonać zgodnie z Dyrektywami Nowego Podejścia w tym z Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2017/745 z dnia 5 kwietnia 2017r w sprawie wyrobów medycznych, które dotyczy zmiany dyrektywy 2001/83/WE, rozporządzenia (WE) nr 178/2002 i rozporządzenia (WE) nr 123/2009 oraz uchylecia dyrektywy Rady 90/385/EWG i 93/42/EWG. Rozporządzenie [MDR2017/745] ustanawia przepisy dotyczące wprowadzenia do obrotu, udostępniania na rynku lub wprowadzania do użytkowania w Unii Europejskiej wyrobów medycznych stosowanych u ludzi oraz wyposażenia medycznego. Rozporządzenie to ma na celu określenie norm zapewniających wysoki poziom jakości i bezpieczeństwa wyrobu medycznego przyjmując jako podstawę najwyższy poziom ochrony zdrowia zarówno pacjenta, jak i użytkownika wyrobu. Sporządzona dokumentacja techniczna w procesie projektowania powinna umożliwić wykazanie zgodności wyrobu z wymaganiami ogólnymi odpowiedniej dyrektywy, rozporządzenia, czy też stosownych norm zharmonizowanych odpowiednich dla projektu danego wyrobu medycznego. Wymagania odnośnie tworzenia dokumentacji technicznej zostały określone w załącznikach II i III cytowanego powyżej rozporządzenia, zaś ogólne wymogi dotyczące bezpieczeństwa i działania wyrobów medycznych zostały szczegółowo określone w załączniku I. Producenci wyrobów medycznych są zobowiązani przechowywać dokumentację techniczną przez okres co najmniej 10 lat od wprowadzenia do obrotu wyrobu objętego deklaracją zgodności. W przypadku wyrobów przeznaczonych do implantacji producent zobowiązuje się do przechowywania dokumentacji technicznej przez co najmniej

15 lat od wprowadzenia ostatniego wyrobu na rynek. Wyroby medyczne powinny być tak projektowane i produkowane by w normalnych warunkach używania były zgodne z ich przewidzianym zastosowaniem. Projektowane wyroby medyczne powinny być bezpieczne, skuteczne i nie mogą stwarzać żadnego zagrożenia klinicznego. Dokumentacja techniczna powinna zostać sporządzona w sposób jasny, uporządkowany, jednoznaczny i umożliwiający łatwe wyszukiwanie. Dokumentacja techniczna składa się z opisu i specyfikacji wyrobu, w tym opisu jego wariantów wyposażenia oraz ogólnych wymagań dotyczących bezpieczeństwa i działania danego wyrobu. Dokumentacja techniczna zawiera również objaśnienia nowych właściwości produktu. Finalna dokumentacja wyrobu powinna zawierać wszelakie informacje techniczne jak i użytkowe przekazywane przez producenta, analizę stosunku korzyści do ryzyka oraz ocenę kliniczną wyrobu. Projektowanie wyrobu medycznego powinno zakończyć się weryfikacją założeń projektowych oraz walidacją produktu. Zgodnie z nowym rozporządzeniem każdy wyrób medyczny powinien być opisany kodem Basic UDI-DI, o którym mowa w załączniku VI części C omawianego rozporządzenia. Specyfikacja wyrobu medycznego obejmuje jego nazwę oraz nazwę handlową, w tym ogólny opis oraz jego przewidziane zastosowanie. Specyfikacja produktu powinna również zawierać informacje dotyczące przewidzianej populacji pacjentów oraz schorzeń, które przy pomocy zaprojektowanego wyrobu mogą zostać zdiagnozowane, monitorowane czy wyleczone. Specyfikacja produktu zawiera także kryteria doboru pacjenta, wskazania oraz przeciwwskazania i ostrzeżenia odnośnie użytkowania wyrobu. W specyfikacji wyrobu producent zawiera również zasady obsługi produktu oraz uzasadnienie zakwalifikowania danego produktu, czy urządzenia jako wyrobu medycznego. Z uzasadnieniem zakwalifikowania powiązana jest klasa ryzyka wyrobu oraz reguły klasyfikacji opisane w załączniku VIII. Specyfikacja wyrobu zawiera nie tylko opis wyposażenia wyrobu, ale także innych wyrobów czy produktów, które przeznaczone są lub mogą być używane w połączeniu z zaprojektowanym wyrobem. Dodatkowo, jeśli projektowany wyrób medyczny przeznaczony jest do użytkowania wraz z innym wyrobem medycznym, to cały zaprojektowany system powinien być bezpieczny, a żadna ze składowych zestawu nie może wpływać na pogorszenie działania całego wyrobu medycznego. Wszystkie elementy zestawu powinny być ze sobą kompatybilne, jeśli natomiast istnieją przesłanki do nieprawidłowego działania to producent wyrobu medycznego jest obligatoryjnie zmuszony do wskazania wszelakich ograniczeń, czy nieprawidłowości wynikających ze stosowania zestawu na etykiecie produktu lub w instrukcji używania wyrobu. Wszystkie połączenia oraz złącza przeznaczone do samodzielnego zmontowania

przez użytkownika są tak projektowane i konstruowane, aby zminimalizować wszelkie ryzyko, np. błędnego podłączenia, do minimum. Specyfikacja techniczna zawiera również informacje o właściwościach wyrobu, jego wymiary, parametry działania, jego warianty i konfiguracje oraz wyposażenie jakie pojawia się w katalogach udostępnianych użytkownikowi i klientowi. Dokumentacja techniczna oraz specyfikacja wyrobu medycznego składa się również z opisu surowców, materiałów z których wykonano elementy konstrukcyjne oraz elementy wchodzące w bezpośredni kontakt z ciałem pacjenta. Podczas procesu projektowania należy uwzględnić ograniczenie wnikania substancji do wyrobu biorąc pod uwagę środowisko pracy w którym ma być zastosowany. Co więcej, należy ograniczyć ryzyko związane z rozmiarem oraz właściwościami cząstek, substancji, materiałów, które mogą zostać uwolnione do ciała pacjenta lub użytkownika. Wszystkie zastosowane materiały i substancje wchodzące w kontakt z pacjentem powinny być zgodne z tkankami, komórkami czy płynami ustrojowymi pacjenta w zależności od zastosowania wyrobu i bezpośredniego z nimi kontaktu. Materiały stosowane do produkcji wyrobów medycznych powinny zostać adekwatnie wybrane względem zastosowania wyrobu. Zastosowany materiał konstrukcyjny należy poddać ocenie biogodności. Projektowany wyrób należy poddać klasyfikacji względem rodzaju i czasu kontaktu z organizmem pacjenta zgodnie z biologiczną oceną wyrobów medycznych [ISO 10993-1]. Wybrane materiały i substancje należy sprawdzić pod względem toksyczności. W sytuacji, gdy zaprojektowana konstrukcja została wykonana z materiałów zawierających substancje rakotwórcze, czy mutagenne w stężeniu wagowym większym niż 0,1% nakłada się na producenta obowiązek poinformowania o zastosowaniu takiego materiału na etykiecie wyrobu lub na jego opakowaniu. Wyroby medyczne powinny być tak projektowane, a materiał z którego są wykonane tak dobrany, by podczas procesu produkcyjnego ryzyko uwalniania jakichkolwiek substancji z wyrobu było jak najmniejsze. Producent zobowiązany jest przed wprowadzeniem produktu do obrotu skompletować zestaw etykiet umieszczany na wyrobie oraz na jego opakowaniu zarówno jednostkowym jak i transportowym w językach akceptowalnych przez państwa w których przewiduje się sprzedaż wyrobu. Ponadto, producent zobowiązany jest do przekazania instrukcji używania w językach akceptowalnych przez państwa członkowskie na terenie których wyrób ma być dystrybuowany. Dokumentacja techniczna zawiera również dane dotyczące każdego etapu projektowania jak i pełne informacje dotyczące procesu produkcyjnego. Dokumentacja zawiera informacje dotyczące wszystkich miejsc, dostawców, podwykonawców w których ma miejsce proces projektowania i produkcji. Projektowany wyrób medyczny powinien być bezpieczny i skuteczny. Dokumentacja techniczna powinna zawierać dowody i potwierdzenie

zgodności z wymaganiami oraz opis metod, które zostały wykorzystane w celu wykazania zgodności bezpieczeństwa. Wszelkie ryzyko wynikające z użytkowania wyrobu ma stanowić dopuszczalne ryzyko, czyli ryzyko możliwe do zaakceptowania przy użytkowaniu wyrobu. Korzyści wynikające z użycia wyrobu muszą przewyższać ryzyko i zapewnić możliwie jak najwyższy poziom bezpieczeństwa i ochronę z uwzględnieniem przyjętego aktualnie stanu wiedzy. Wszelkie ryzyko, które może się wiązać z użytkowaniem danego wyrobu medycznego powinno stanowić w porównaniu z korzyściami dla pacjenta tak zwane ryzyko dopuszczalne i być zgodne z wysokim poziomem ochrony życia pacjent. Podczas projektowania wyrobów medycznych nakłada się na producenta obowiązek analizy ryzyka [ISO 14971]. Analiza ryzyka procesu projektowania powinna identyfikować zagrożenia związane z konstrukcją urządzenia, użytkowaniem i użytecznością wyrobu oraz jego procesem produkcji. Producent uwzględniając środki sterowania ryzykiem, zgodnie z aktualnym stanem wiedzy, dąży do uzyskania jak najmniejszego ryzyka wynikającego z użytkowania projektowanego wyrobu. W stosownych przypadkach, kiedy to nie ma możliwości zniwelowania wysokiego poziomu ryzyka producent zobowiązany jest do zapewnienia odpowiednich środków ochrony mających na celu dbałość o bezpieczeństwo pacjenta jak i użytkownika wyrobu. Do środków ostrożności zalicza się wprowadzenie odpowiednich alarmów, ostrzeżeń czy przeciwwskazań do użytkowania urządzenia. Producent wyrobu medycznego ma za zadanie w jak największym stopniu ograniczyć ryzyko związane z ergonomią wyrobu, jego użytecznością, warunkami środowiska w którym będzie stosowany oraz osobami przez które będzie używany [EN 62366-1]. W specyfikacji wyrobu jasno określa się docelową grupę użytkowników oraz ich poziom wykształcenia i doświadczenia. System zarządzania ryzykiem uwzględnia zatem w swojej ocenie docelową grupę użytkowników wyrobu, to znaczy rozpatrywane jest potencjalne ryzyko niepoprawnego użycia wyrobu w grupie użytkowników wskazanych przez producenta tj. grupie laików, profesjonalistów czy innych użytkowników mających możliwość korzystania z urządzenia. Producent ma obowiązek tak zaprojektować wyrób medyczny, by podczas uszkodzenia urządzenia przy normalnym użytkowaniu i prawidłowej konserwacji wyrobu wskazanej w instrukcji używania oraz we wskazanym okresie używania, zaprojektowany wyrób nie stanowił żadnego zagrożenia dla bezpieczeństwa pacjenta i wskazanej grupy użytkowników. Wyroby medyczne są projektowane, produkowane, dalej pakowane w sposób uprzednio zaplanowany, by podczas transportu nie uległy zniszczeniu ani żadna z właściwości wyrobu nie uległa zmianie. Wszelkie znane i dające się przewidzieć ryzyko podczas wymienionych procesów musi zostać zminimalizowane i pozostać na akceptowalnym poziomie w stosunku

korzyści płynących ze stosowania wyrobu nad ryzykiem utraty bezpieczeństwa dla pacjenta. Dokumentacja techniczna powinna zawierać również informacje na temat przeprowadzonych procesów weryfikacji i walidacji projektowanego wyrobu wraz z ich krytyczną analizą. W skład dokumentacji weryfikacji i walidacji wyrobu medycznego wlicza się dane przedkliniczne i kliniczne oraz wyniki badań inżynierskich, laboratoryjnych czy testów w symulowanych warunkach pracy wyrobu. Badania przeprowadzane mogą być na komórkach, tkankach czy zwierzętach. We wskazanych przypadkach rekomendowane jest przeprowadzenie pełnometrażowego badania klinicznego z udziałem ludzi. Dane przedkliniczne i kliniczne powinny zawierać opis i przegląd literatury mający zastosowanie do projektowanego wyrobu przy uwzględnieniu jego zastosowania lub do wyrobów podobnych w zakresie bezpieczeństwa oraz zgodności ze specyfikacjami [ISO 14155]. Badania przedkliniczne zawierają także dane dotyczące biokompatybilności wyrobu, w tym identyfikacje wszystkich materiałów mających bezpośredni kontakt z pacjentem. Badanie przedkliniczne i kliniczne poprzedza plan oceny klinicznej. Wyniki i wnioski z badań zawarte są w sprawozdaniu z oceny klinicznej. Dodatkowe informacje są wymagane między innymi w przypadkach, gdy wyrób jest wprowadzany na rynek w stanie sterylny lub aby, uzyskać zakładane działanie wymagane jest połączenie go z innym wyrobem nie będącym produktem producenta. Analizie należy poddać dane zarówno korzystne jak i niekorzystne dla projektowanego wyrobu. Szczegółowość oceny klinicznej uzależniona jest od klasy danego wyrobu oraz ryzyka z nim związanego. Producent wyrobów medycznych zobowiązany jest do sporządzenia okresowych raportów o bezpieczeństwie po wprowadzeniu wyrobu do sprzedaży. W okresowych raportach o bezpieczeństwie po wprowadzeniu wyrobu do obrotu należy ocenić, jak powyższe informacje wpływają na potencjalne zagrożenie wywołane użytkowaniem wyrobu oraz częstotliwość jego występowania. Raporty te wchodzi w skład dokumentacji technicznej zaprojektowanego wyrobu. Dokumentacja techniczna dotycząca nadzoru wyrobu po wprowadzeniu do obrotu powinna zawierać również informacje o ewentualnych zdarzeniach niepożądanych czy incydentach medycznych z wykorzystaniem naszego wyrobu. Producent powinien przechowywać informacje zwrotne, skargi i opinie dotyczące wyrobu oraz włączać te dane do dokumentacji technicznej dotyczącej nadzoru po wprowadzeniu wyrobu do sprzedaży. Oprócz europejskiego rozporządzenia w sprawie wyrobów medycznych dodatkowe wskazówki do poprawnego prowadzenia projektu medycznego zawarte są w normie [ISO 13485]. Jest to norma określająca dobre praktyki jakościowe oraz system zarządzania jakością dla producentów wyrobów medycznych. W rozdziale 7 niniejszej normy opisano poszczególne fazy procesu projektowania.

W przywołanym dokumencie zwrócono uwagę na planowanie procesu projektowania i rozwoju, określenie danych wejściowych oraz wyjściowych do projektowania, przeglądów projektowania, weryfikacji i walidacji zaprojektowanego wyrobu, transferu prac projektowych na produkcję oraz nadzorowania wszelkich zmian projektowych gotowego wyrobu. Projektowanie wyrobów medycznych powinno być zgodne z wymogami ogólnymi. Sporządzona dokumentacja podczas procesu projektowania powinna być utrzymywana i przechowywana w „Technical File”. Technical File służy producentowi do udokumentowania oceny zgodności. Utrzymanie zgodności wyrobu możliwe jest z pomocą systemu zarządzania jakością zgodnym z ISO 13485. Jednak prowadzenie SZJ przez producenta wyrobów medycznych zgodnego z ISO 13485 nie jest obowiązkowe. Natomiast spełnienie tych wymagań wprowadza dobre praktyki jakościowe oraz zwiększa prestiż przedsiębiorstwa. Niżej przedstawiony opis projektowy stanowi część dokumentacji technicznej wyrobu i został wykonany zgodnie z wyżej wymienionymi wytycznymi SZJ, przedmiotowymi normami i rozporządzeniem.

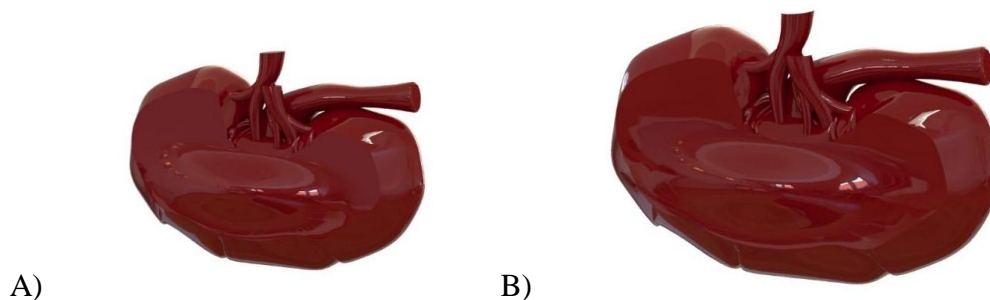
3.2. Cel i wymogi dotyczące projektowanego wyrobu medycznego.

Celem projektu było zaprojektowanie oraz wykonanie serii prototypowej urządzenia chłodzącego narząd nerki podczas zabiegu transplantacji. Przed rozpoczęciem procesu projektowania dokonano przeglądu patentowego oraz zgromadzono informacje dostępne na rynku dotyczące konstrukcji SCHN podczas zabiegu transplantacji. Konstrukcja urządzenia powinna zostać zaprojektowana na kształt nakładki otulającej chłodzony narząd, tak by przyleganie urządzenia do chłodzonego narządu było jak największe. Zaprojektowany wyrób powinien być jednorazowy, sterylny oraz wykonany z materiałów biozgodnych. Planuje się wykorzystanie nakładki chłodzącej w zabiegach chirurgii otwartej oraz małoinwazyjnej. Konstrukcja nakładki powinna umożliwiać swobodne przejście wyrobu przez dedykowany port używany w operacjach laparoskopowych, czy zabiegach z użyciem robotów chirurgicznych takich jak np. da Vinci. Nakładka powinna być dostosowana do fizjologicznych rozmiarów i kształtu nerki. NCH powinna być kompatybilna z dowolnym wymiennikiem ciepła jak i urządzeniem elektronicznym, czy każdym innym rozwiązaniem technicznym odpowiadającym za przepływ cieczy w układzie chłodzącym. Wyrób medyczny przeznaczony będzie dla użytkownika profesjonalnego i zakazuje się jego użycia w warunkach domowych. Projektowana nakładka ma być jednorazowym wyrobem medycznym podlegającym sterylizacji medycznej. Masa finalnego

wyrobu powinna być jak najmniejsza. Dąży się do zaprojektowania konstrukcji lekkiej i prostej w budowie. Konstrukcja nakładki powinna być ergonomiczna i przystosowana do środowiska panującego w polu operacyjnym. Projekt nakładki powinien uwzględniać możliwość łatwego podłączenia naczyń dawcy z naczyniami biorcy. Materiał z którego zostanie wykonana NCH nie może wchodzić w interakcje biochemiczne z organizmem pacjenta oraz stanowić dla pacjenta zagrożenia klinicznego. Zaprojektowany wyrób medyczny przeznaczony będzie do bezpośredniego kontaktu z tkanką oraz krwią pacjenta. Nakładka przeznaczona będzie do chwilowego użytku, w normalnych warunkach ciągłego używania przez czas krótszy niż 60 minut. Zaprojektowany wyrób powinien być używany jako sterylny, dlatego przed użyciem wymagana jest sterylizacja. Projektowany wyrób powinien być konstrukcyjnie dostosowany do wykonania sterylizacji z użyciem tlenu etylenu. Zaprojektowane opakowanie ma zapewnić pełną sterylność wyrobu medycznego. Wyrób medyczny powinien być produkowany w strefie czystej. NCH nie będzie przeznaczona do implantacji. NCHN zaprojektowana zgodnie z powyższymi wymaganiami będzie wyrobem medycznym nieaktywnym. Technologia wytwarzania powinna być dostosowana do użytego materiału konstrukcji. Finalny produkt powinien być tani w produkcji i zgodny z założeniami budżetowymi firmy.

3.3. Materiał i metoda projektowania.

W ramach procesu projektowania i rozwoju sporządzono dane wejściowe do projektowania oraz ustalono harmonogram projektu. Przed przystąpieniem do wykonania projektu wykonano model anatomiczny nerki, który pomógł zaprojektować odpowiednią konstrukcję SCHN. Model nerki został wykonany z użyciem technologii szybkiego prototypowania 3D. Trójwymiarowy model nerki powstał na podstawie sekcji obrazów medycznych DICOM i został zapisany w rozszerzeniu .stl dedykowanym dla drukarek 3D. Nerka została wydrukowana w technologii druku FDM. Do wydrukowania użyto materiału bazowego ABS oraz materiału podporowego. Grubość warstwy materiału bazowego wynosiła 0,2540 mm. Ze względu na różnorodność osobniczą przygotowano dwa przestrzenne modele nerek. Wyjściowy model o wymiarach 11 cm x 7 cm x 4 cm ze skalowano do rozmiaru 9 cm x 5 cm x 3 cm. Modele 3D (Rysunek III.1) drukowanych nerek przedstawiono poniżej.



Rysunek III.1. Model 3D nerki o wymiarach A) 9 cm x 5 cm x 3 cm oraz B) wymiarach 11 cm x 7 cm x 4 cm.

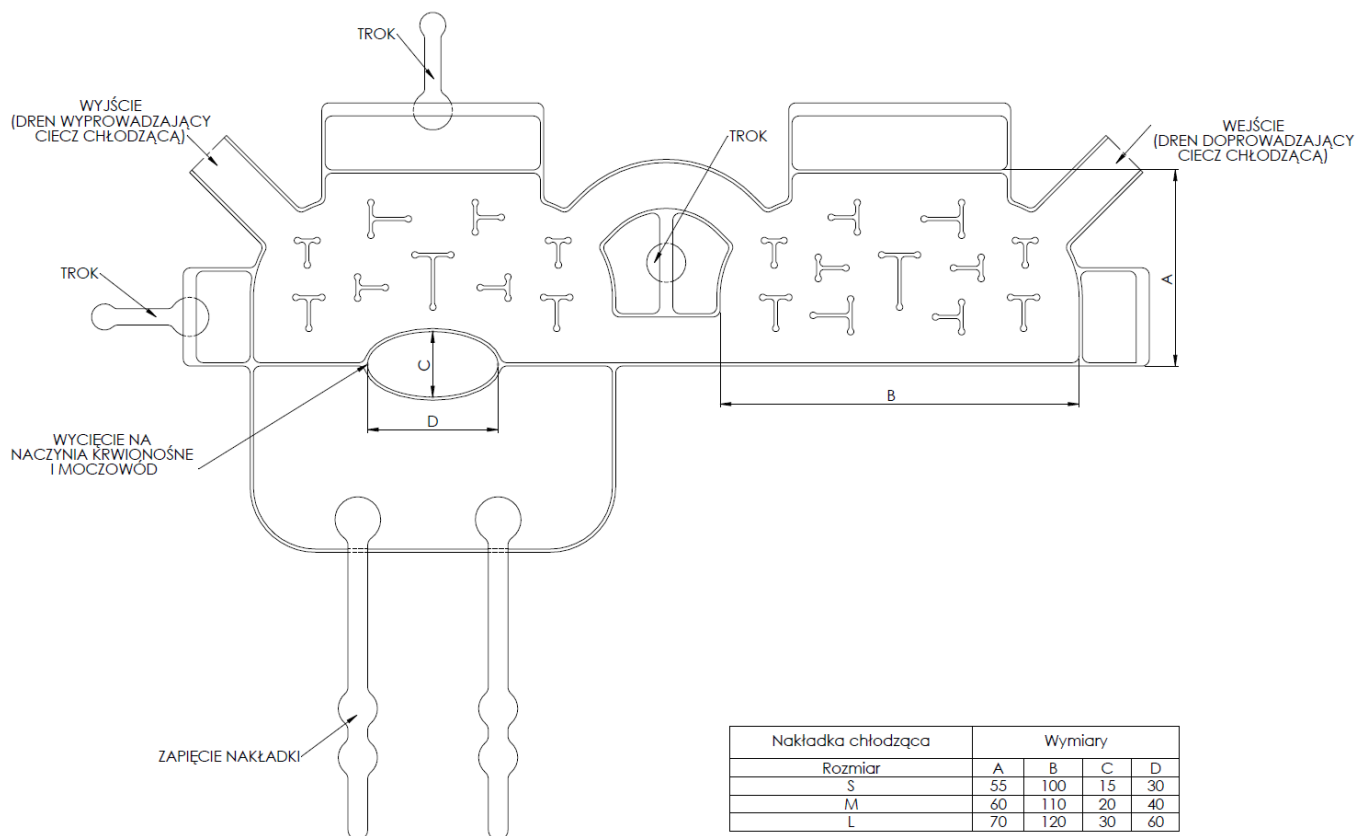
Projekt nakładki chłodzącej równocześnie został opracowany w środowisku SolidWorks 2019 jak i COMSOL Multiphysics 4.4. Oprogramowanie SolidWorks pozwoliło na zaprojektowanie konstrukcji i zaimportowanie wykonanego projektu do środowiska MES. Każde zaprojektowane rozwiązanie sprawdzono przy pomocy elementów skończonych. Podczas oceny projektu wewnętrznego kształtu nakładki zabrano pod uwagę swobodny przepływ cieczy chłodzącej oraz przybliżony rozkład temperatury panujący w nakładce chłodzącej.

3.4. Wynik procesu projektowania i prototypowania.

Projektowanie NCHN.

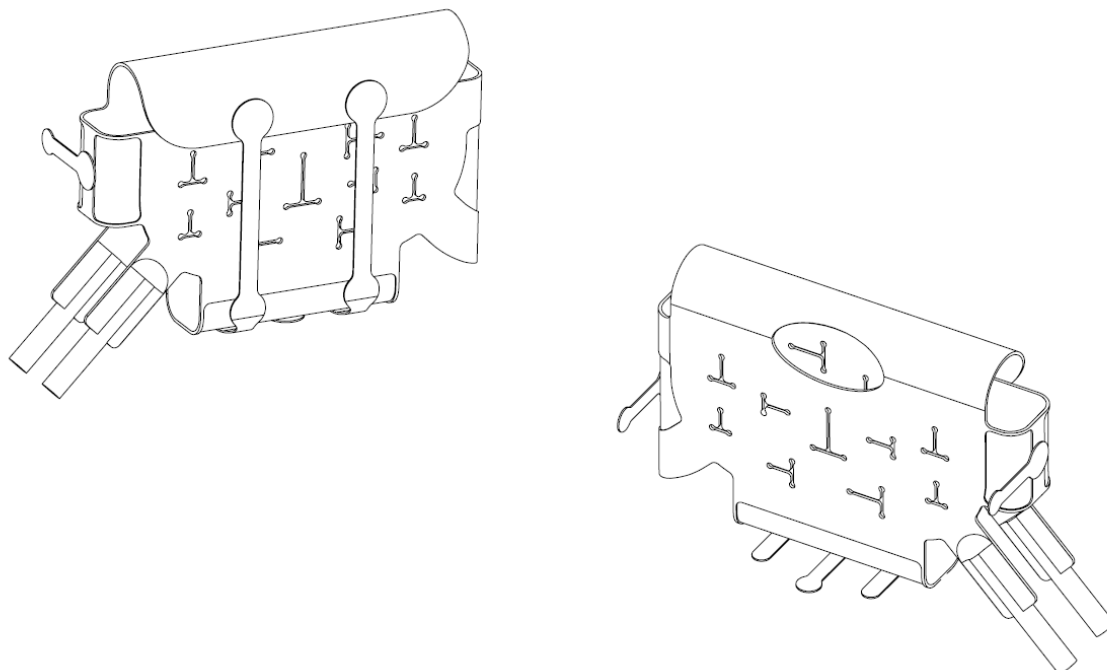
W wyniku rozmów z klinicystami uzgodniono wykonanie NCH w kilku rozmiarach. Zewnętrzny kontur NCH został zaprojektowany względem wymiarów fizjologicznej nerki. Zaprojektowano NCHN na kształt nakładki otulającej chłodzony narząd. Transplantowany narząd wkłada się w NCH. Nakładka została wykonana z cienkiego oraz biogodnego materiału. NCH składa się z dwóch warstw między którymi przepływa ciecz chłodząca. Warstwa zewnętrzna nakładki ma grubość 0,25 mm zaś warstwa wewnętrzna nakładki ma grubość 0,14 mm. Wewnątrz NCH między dwoma warstwami cienkiego materiału zaprojektowano odpowiedni system kanałów rozprowadzających ciecz chłodzącą. Kanały rozprowadzające ciecz chłodzącą między dwoma warstwami NCH zostały utworzone przez spoiny przyjmujące postać liter "T" usytuowanych w różnej pozycji. Orientacja liter "T" pozwala na rozbitcie strumienia cieczy oraz swobodny przepływ medium między przegrodami. Litery "T" są autorskim pomysłem. Wybrany kształt spoin nie narusza praw własności intelektualnej w opatentowanych dotąd konstrukcjach nakładek chłodzących. Przyjmuje się iż, najlepsze chłodzenie narządu jest realizowane, gdy zostanie zachowany ciągły laminarny przepływ cieczy między warstwami nakładki, przez którą płynie ciecz chłodząca. Dlatego NCH w swojej konstrukcji posiada spoiny, które łączą ze sobą dwie

przeciwległe części materiału. Spoiny tworzą przegrody między którymi przepływa ciecz chłodząca. Przegrody zostały zaprojektowane, tak by rozbiły strumień cieczy chłodzącej i ciecz dotarła do każdego miejsca konstrukcji. Dodatkowo spoiny powodują, że konstrukcja nakładki ściślej przylega do transplantu. Zakłada się, że NCH pozbawiona spoin tworzących przegrody do rozprowadzania cieczy przyjmuje niejednakowy, szeroki kształt w wyniku niejednorodnego wypełnienia cieczą chłodzącą przestrzeni przepływowej wewnątrz nakładki. Niejednorodne wypełnienie nakładki znacznie utrudnia poprawne i ścisłe przyleganie nakładki do narządu. Zaprojektowana NCHN przylega w całości do narządu. Dodatkowo konstrukcja posiada otwór przez który łączy się naczynia krwionośne i moczowód biorcy. Nakładkę chłodzącą zaprojektowano w trzech rozmiarach różniących się długością, wysokością oraz szerokością. Dla każdego z rozmiarów zmieniono proporcjonalnie długość i szerokość wycięcia otworu na naczynia. Otwór na naczynia ma kształt elipsy. Dodatkowo każdy z rozmiarów NCH wyposażono w troczki, które umożliwiają swobodne przesuwanie nakładki w polu operacyjnym. NCHN posiada zapięcie, dzięki któremu możemy zamknąć w nakładce transplantowany narząd podczas zabiegu transplantacji. Zamknięcie narządu w nakładce spowoduje efektywniejsze przyleganie konstrukcji do nerki, co wpływa na wydajniejszą wymianę ciepła między obiektami. Zamknięcie nakładki przy użyciu dedykowanych pasków nie koliduje z możliwością swobodnego zespolenia naczyń krwionośnych i moczowodu nerki. Naczynia krwionośne oraz moczowód wychodzą przez dedykowany otwór z pokrywy nakładki a zapięcie nakładki zlokalizowane jest po przeciwnej stronie od otworu na zespolenie naczyń. Aby, zamknąć NCHN należy dwa paski służące do zamknięcia nakładki przełożyć przez szlufki znajdujące się u spodu nakładki. Paski do zamykania nakładki zamocowane są w górnej części nakładki pod otworem na naczynia. Ciecz chłodząca wprowadzana jest do nakładki przy pomocy drenu wejściowego. Poniżej na Rysunek III.2 przedstawiono schematyczny rysunek płaski 2D NCHN oraz zaznaczono główne wymiary zaprojektowanej konstrukcji wraz z opisem elementów wchodzących w skład nakładki. Zaznaczono dren wejściowy, przez który ciecz chłodząca wpływa do nakładki oraz dren wyjściowy przez który medium chłodzące wypływa z nakładki. Nakładka posiada dwa kanały, które łączą dwie części konstrukcji NCH. Przez kanały łączące przepływa ciecz chłodząca. Nakładka jest dostępna w trzech rozmiarach (Rysunek III.2). Najmniejszy rozmiar NCHN określono symbolem "S" (od ang. Small), pośredni rozmiar nakładki opisano symbolem "M" (od ang. Medium), zaś największy symbolem "L" (od ang. Large). Klinicysta chirurg dokonuje wyboru, którego rozmiaru NCHN użyje podczas zabiegu transplantacji na podstawie geometrii przeszczepu.

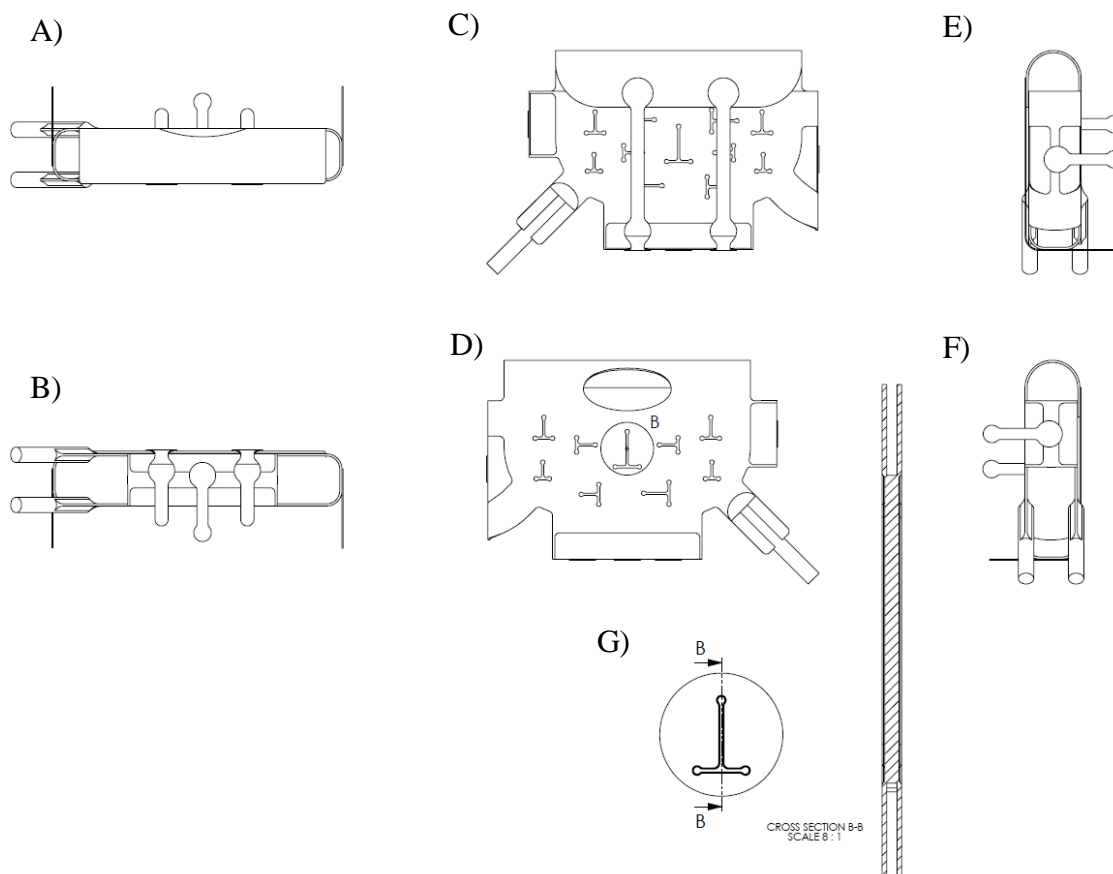


Rysunek III.2. Rysunek płaski NCH wraz z opisem elementów dodatkowych i tabelą przedstawiającą główne rozmiary nakładek.

Poniżej przedstawiono projekt 3D nakładki chłodzącej w rzucie izometrycznym oraz w podstawowych rzutach geometrii modelu (Rysunek III.3, Rysunek III.4).



Rysunek III.3. Przestrzenna wizualizacja nakładki chłodzącej.



Rysunek III.4. Projekt 3D nakładki chłodzącej. A) Rzut z góry, B) rzut z dołu, C) rzut z przodu, D) rzut z tyłu, E) -F) rzut z boków, G) przekrój między zgrzanymi warstwami nakładki.

Podczas procesu projektowania wybrano także średnice drenu wejściowego i wyjściowego jako 7 mm. Jest to maksymalna średnica drenu, który może zostać zastosowany jako przyłącze do podawania cieczy chłodzącej. Dren doprowadzający medium do NCH oraz dren wyprowadzający ciecz z NCH wykonano z silikonu o twardości 50 Shore'a. Średnice i twardość drenów wybrano z uwzględnieniem technologii wytwarzania nakładki, wielkości konstrukcji NCHN oraz obszaru zastosowania SCHN. NCHN wraz z przyłączami i drenami powinna być na tyle elastyczna i łatwo formowalna, aby chirurg podczas operacji miał możliwość zmiany jej kształtu oraz zwinięcia przy wprowadzaniu do jam ciała pacjenta. Dreny wejściowe i wyjściowe umocowane wewnątrz NCHN są ścięte tak, by wpływająca ciecz rozchodziła się w każdym kierunku nakładki. Dreny nakładki zakończone są złączkami, dzięki którym całość konstrukcji można sprawnie połączyć z SCHN. Zastosowane złączki wykonano z PP. Jako ciecz-medium chłodzące wybrano sól fizjologiczną. W wyniku przeprowadzonej analizy ryzyka użycia wyrobu w trakcie zabiegu chirurgicznego rozważono możliwość przekłucia NCHN ostrym narzędziem, takim jak np. skalpel podczas wykonywania procedur transplantacyjnych. W związku z możliwością wypłynięcia cieczy chłodzącej do jam ciała pacjenta zdecydowano o użyciu jako medium

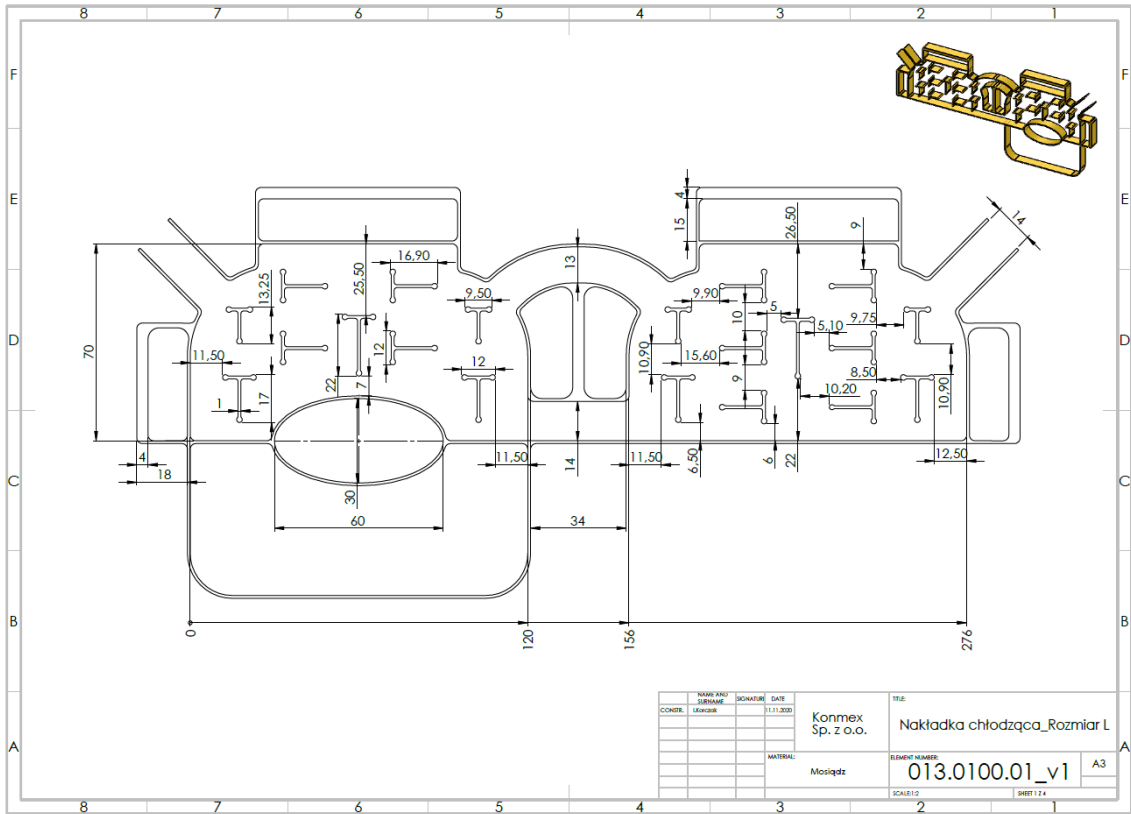
chłodzącego soli fizjologicznej, czyli NaCl o stężeniu 0,9% (płyn izotoniczny). Jest to ciecz bezpieczna dla człowieka i powszechnie używana w praktyce medycznej jako płyn infuzyjny. Wypłynięcie NaCl z NCHN nie wywoła żadnych odczynów alergicznych w kontakcie z tkankami i strukturami biologicznymi pacjenta. Jest to rekomendowane rozwiązanie i zakazuje się użycia w czasie działania NCH innej cieczy chłodzącej. W wyniku analizy ryzyka zabrano pod uwagę również możliwość zagięcia NCH podczas operacji i zatkania przepływu cieczy chłodzącej. Zdecydowano o dołączeniu do konstrukcji drenu o średnicy zewnętrznej równej 2 mm jako łącznika między dwoma częściami NCH. Dren umiejscowiono między dwoma warstwami nakładki w kanałach łączących dwie części nakładki. Cienki dren ma za zadanie rozdzielić dwie warstwy materiału. Sklejenie nakładki może wynikać z nieprawidłowego złożenia nakładki lub zaaplikowania cieczy o niższym ciśnieniu i natężeniu przepływu niż zalecono, co zablokuje rozprężenie NCHN. Dodanie do konstrukcji drenu podwyższy skuteczność urządzenia oraz wpłynie na pomyślność prowadzonej procedury.

Prototyp NCHN.

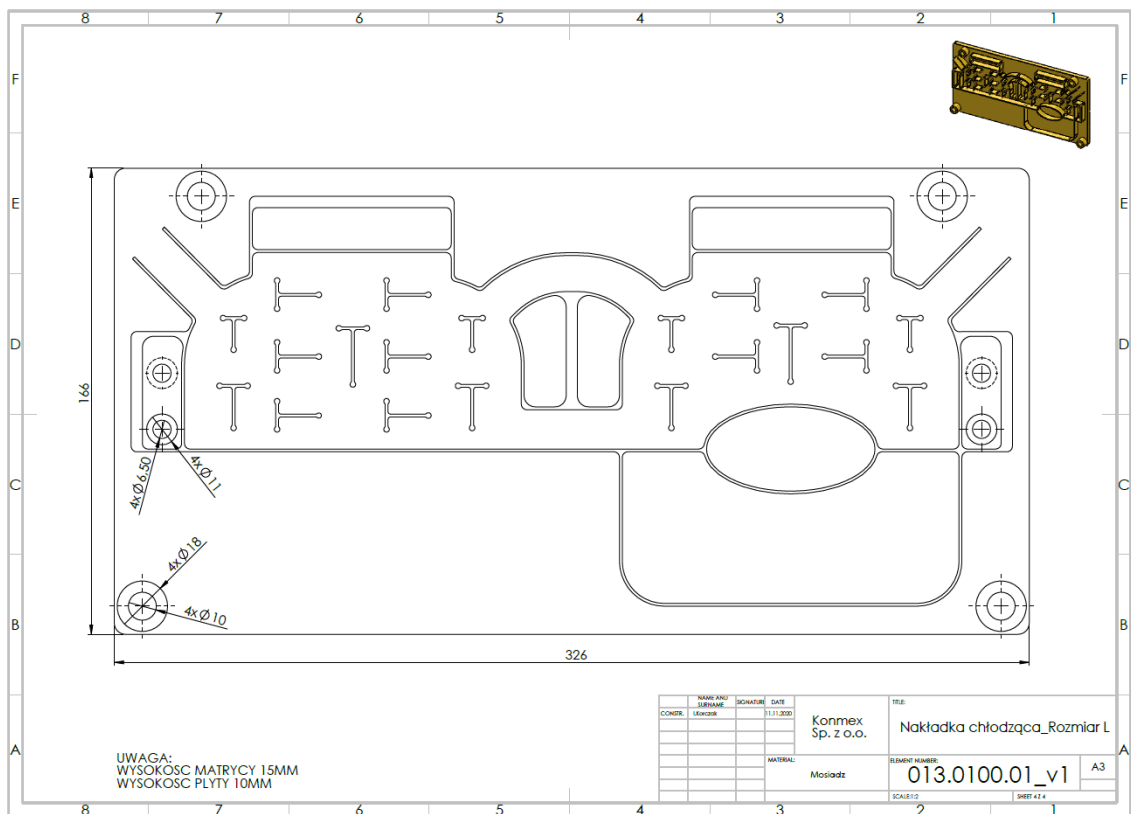
Rysunki techniczne (Rysunek III.5 ÷ Rysunek III.10) poniżej przedstawiają z wymiarowane finalne konstrukcje trzech NCHN oraz rysunki form wykonawczych z których wykonano nakładki. Zaprojektowano technologię wytwarzania nakładki oraz jej materiał. Ustalono iż, NCH zostanie wykonana z materiału termoplastycznego. Wybrano materiał PVC z atestem medycznym. Wybrany granulat z którego wykonano dreny przyłączeniowe do nakładki nie zawiera w swojej budowie substancji SVHC. Substancje identyfikowane akronimem SVHC są to substancje, które należą do substancji wzbudzających szczególnie duże obawy. Substancje te mogą mieć niepożądany wpływ na zdrowie pacjenta. Są to substancje rakotwórcze, substancje działające mutagennie i szkodliwie na komórki rozrodcze oraz płodność, substancje które są trwałe (PBT) bądź bardzo trwałe (vPvB) i posiadają zdolność do bioakumulacji. Mieszanina granulatu nie spełnia kryteriów PBR oraz vPvB, tzn. nie została wpisana na listę substancji ECHA. Oficjalna lista substancji SVHC to wykaz przygotowany przez Europejską Agencję Chemikaliów ECHA zawierającą szkodliwe i niebezpieczne substancje dla zdrowia i środowiska. Granulat użyty do produkcji drenów posiada deklarację zgodności REACH. Materiał z którego wykonano NCH również nie zawiera żadnych SVHC substancji ani substancji szkodliwych według XIV załącznika rozporządzenia REACH. W półfabrykacie folii PVC nie odnotowano żadnych pochodnych ftalanów, a użyty plastyfikator stanowi nowy nieftalanowy plastyfikator przeznaczony

do produkcji. PVC jest materiałem powszechnie wykorzystywanym do produkcji wyrobów medycznych. Nakładka została wykonana przy pomocy zgrzewania prądami wysokiej częstotliwości HF. Łączenie materiałów następuje w miejscu docisku elektrody poprzez wytworzenie zgrzewu między spajanymi materiałami. Technologia zgrzewania prądami wysokiej częstotliwości jest szeroko dostępna i odpowiednia dla spajania polichlorku winylu. Rysunek III.5, Rysunek III.7, Rysunek III.9 przedstawia wymiary gabarytowe oraz szczegółowe wymiary i rozmieszczenie zgrzewów w konstrukcji urządzenia. Rysunek III.6, Rysunek III.8, Rysunek III.10 to rysunek wykonawczy, z którego została wykonana elektroda nakładki chłodzącej. Elektrode wykonano z bliku mosiądzu MO58 / CuZn40PB2 w procesie frezowania. Jest to stop o dobrej podatności do obróbki skrawaniem i jest rekomendowanym materiałem inżynierskim do wykonania elektrod do zgrzewania prądami wysokiej częstotliwości.

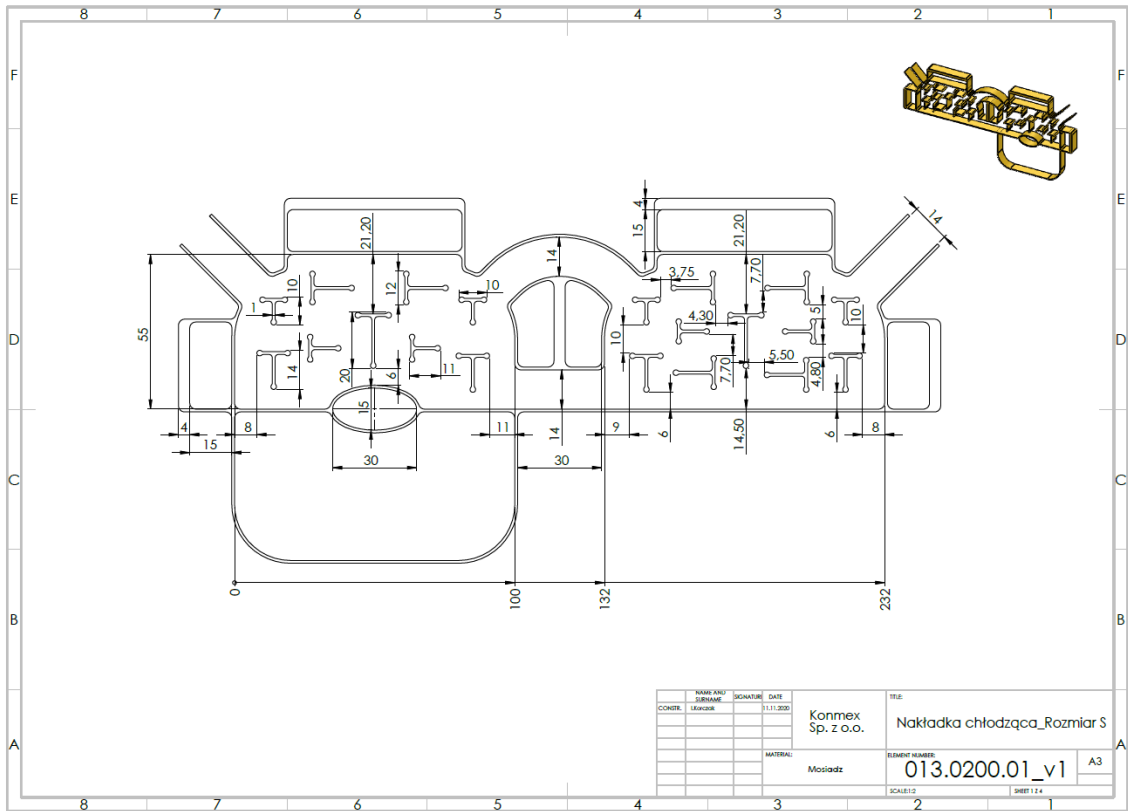
W wyniku prac projektowych zostały sukcesywnie wdrożone do produkcji NCH w trzech rozmiarach. W pierwszej kolejności wykonano nakładkę w rozmiarze L. Elektrody do zgrzewania NCH wykonano samodzielnie (Rysunek III.11). NCHN wykonano w kooperacji z firmą zewnętrzną ze względu na brak wymaganej infrastruktury produkcyjnej do zgrzewania materiałów prądami wysokiej częstotliwości. Proces zgrzewania prądami wysokiej częstotliwości podzielono na dwa etapy. Pierwszy z nich obejmował wykonanie NCH według projektu formy z rysunku wykonawczego. Dwie warstwy materiału zostały zgrzane po obrysie konstrukcji oraz w miejscach liter "T". Drugi etap prac obejmował połączenie ze sobą bocznych ścian NCH. Dodanie do konstrukcji nakładki troków do przesuwania oraz pasków do zapięcia było oddzielną operacją i zostało wykonane jako ostatni etap pracy nad wykonaniem NCHN. Po weryfikacji konstrukcji przystąpiono do wykonania kolejnych rozmiarów nakładki według projektu inżynierskiego. Poniżej przedstawiono finalne rysunki wykonawcze form, z których wykonano prototypowe NCHN w trzech rozmiarach.



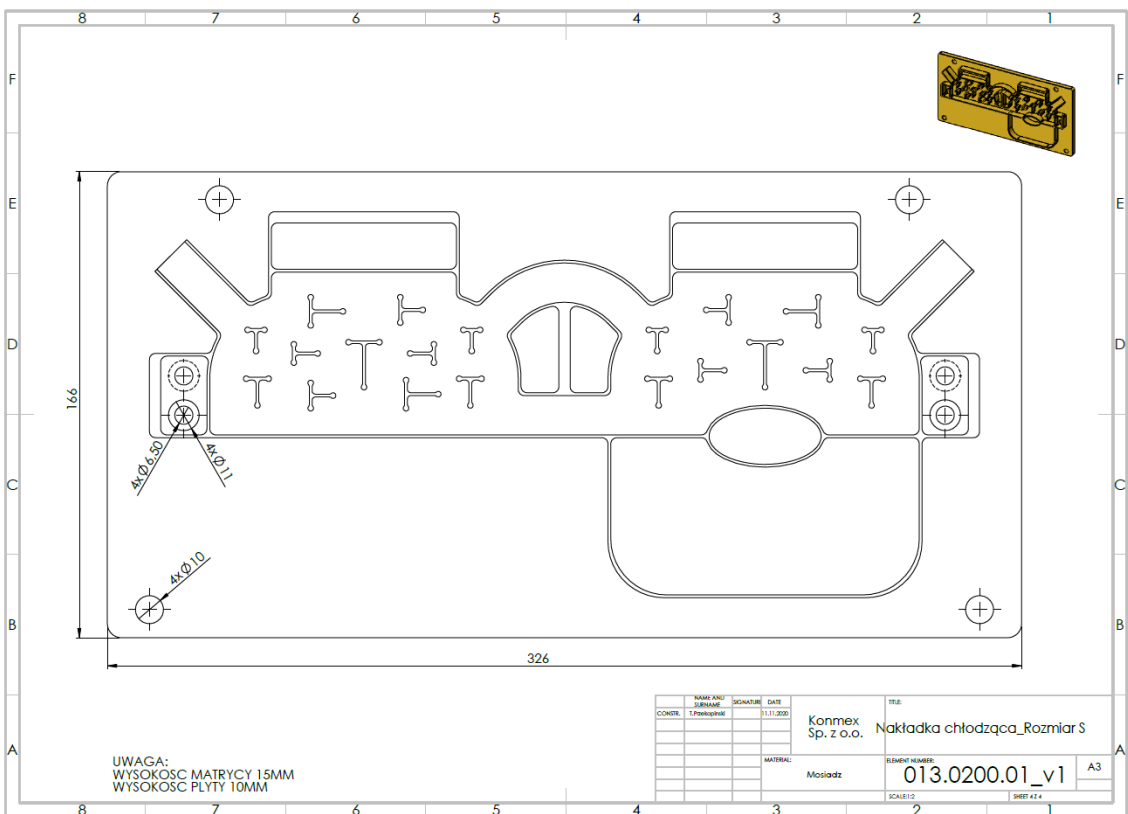
Rysunek III.5. Rysunek techniczny nakładki chłodzącej w rozmiarze L.



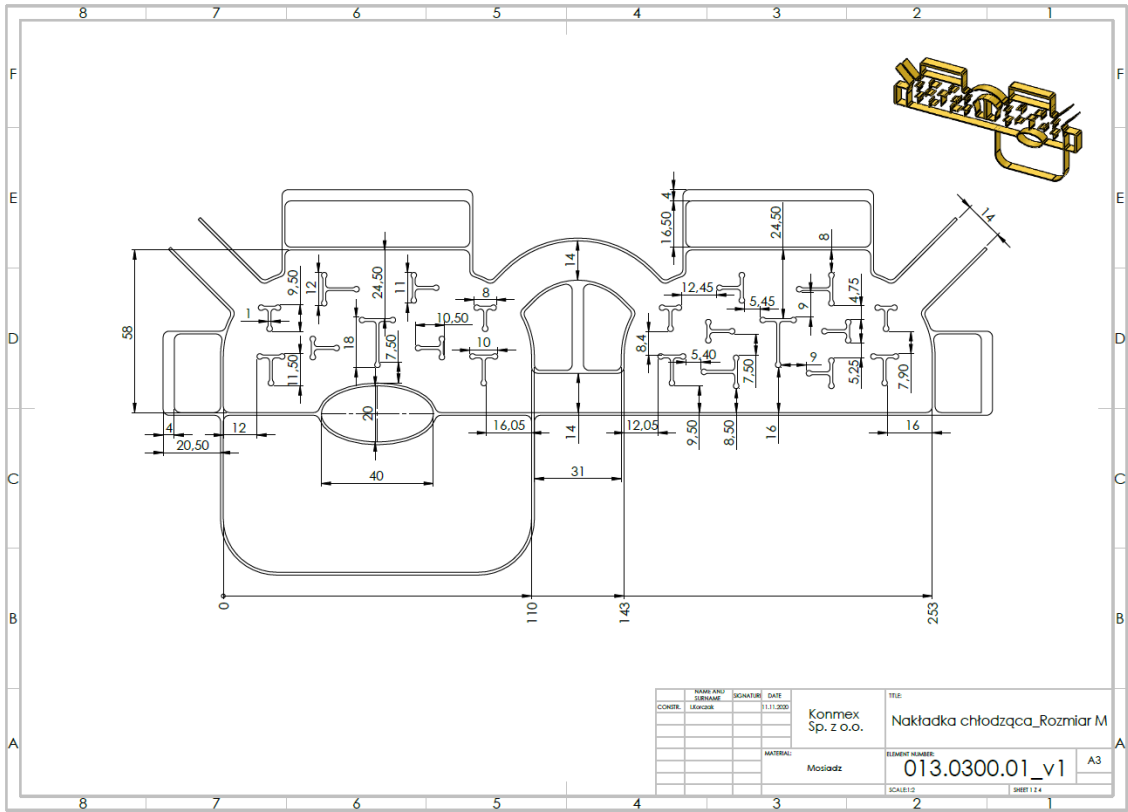
Rysunek III.6. Rysunek wykonawczy elektrody nakładki chłodzącej w rozmiarze L.



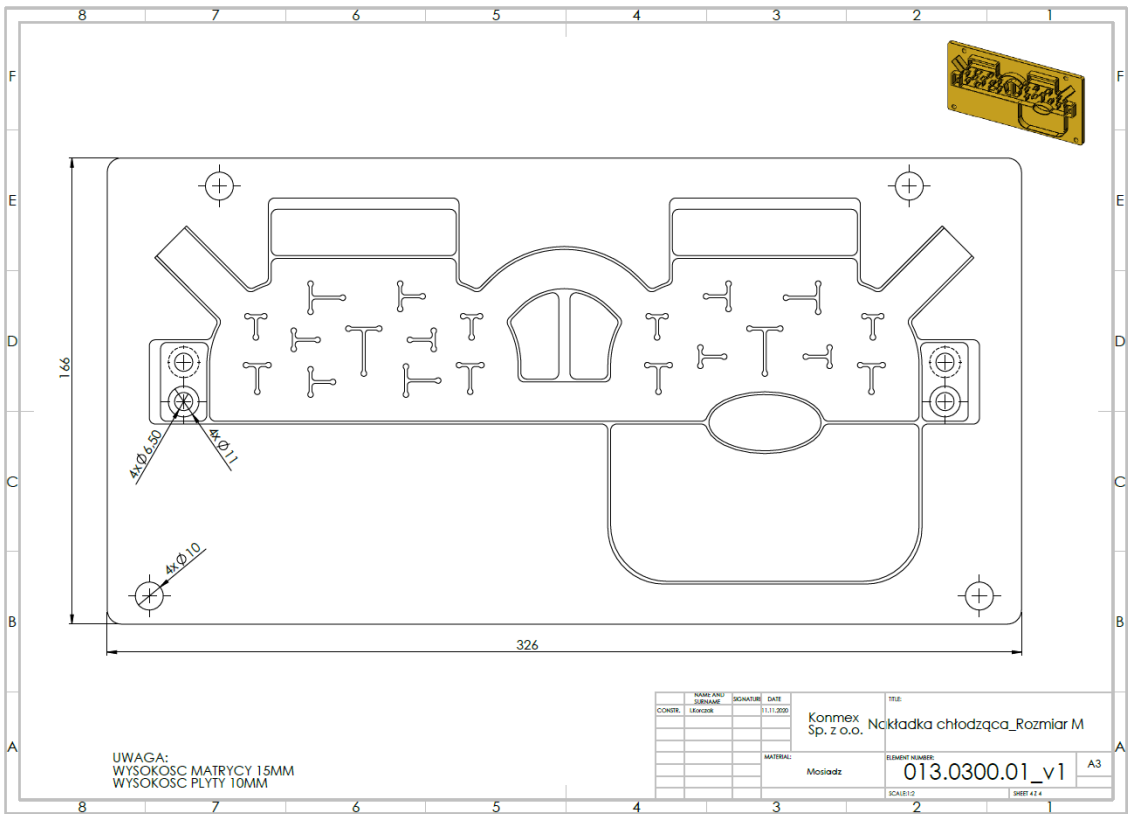
Rysunek III.7. Rysunek techniczny nakładki chłodzącej w rozmiarze S.



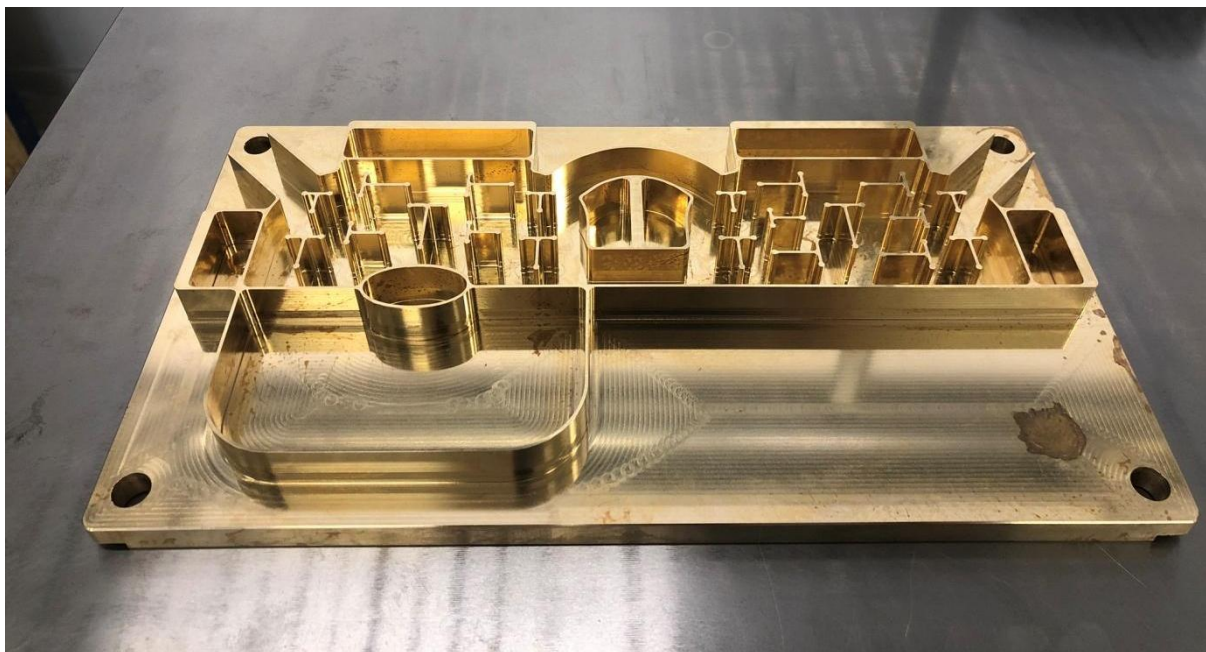
Rysunek III.8. Rysunek wykonawczy elektrody nakładki chłodzącej w rozmiarze S.



Rysunek III.9. Rysunek techniczny nakładki chłodzącej w rozmiarze M.



Rysunek III.10. Rysunek wykonawczy elektrody nakładki chłodzącej w rozmiarze M

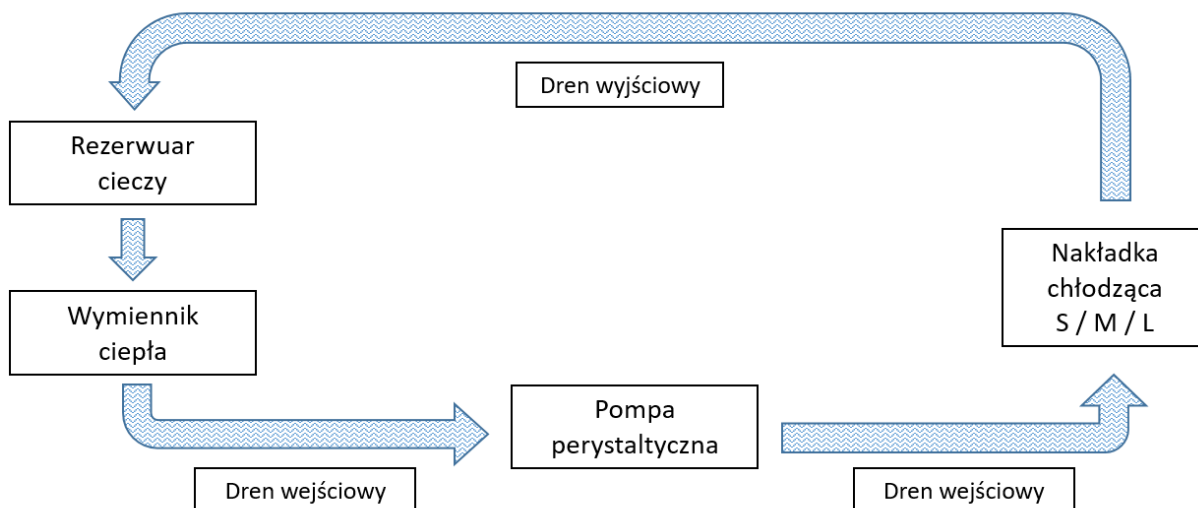


Rysunek III.11. Forma NCHN do grzewania prądami wysokiej częstotliwości.

Procedura implementacji NCHN.

Po zakończeniu procesu produkcji określono dedykowaną procedurę implementacji NCHN w polu operacyjnym. Przed użyciem NCHN należy upewnić się, że wyrób został dostarczony w stanie sterylnym i nie została naruszona żadna z barier sterylności. Zaleca się wstępne uruchomienie SCHN tzw. priming przed rozpoczęciem procedury transplantacyjnej. Nakładkę należy połączyć z urządzeniem odpowiedzialnym za przepływ cieczy oraz wymiennikiem ciepła. W wymienniku będzie następowała wymiana ciepła w układzie. Podczas wykonywania procedury medycznej zaleca się wykorzystanie pompy perystaltycznej jako urządzenia do transportu cieczy. Pompy perystaltyczne są szeroko stosowanymi urządzeniami w praktyce laboratoryjno - medycznej i charakteryzują się możliwością nastawy natężenia przepływu w szerokim spektrum. Nakazuje się używać do połączeń dedykowanego zestawu sterylnych drenów. NaCl musi pozostać sterylna przez cały czas trwania zabiegu chirurgicznego. Zakazuje się używania NCHN w połączeniu z pompą przez której głowicę bezpośrednio przepływa ciecz chłodząca. Roztwór NaCl nie może mieć kontaktu z żadnym z elementów pompy. Pompa perystaltyczna przeznaczona do tego użytku powinna być wyposażona w ruchomą głowicę przez której rolki można swobodnie przełożyć sterylny dren. Rekomendowanym rozwiązaniem jest użycie jako wymiennika ciepła rękawa chłodzącego. Całość zestawu należy podłączyć według następujących instrukcji oraz wg schematu na Rysunek III.12. Rękaw chłodzący należy chłodzić w temperaturze $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez 12 h przed

użyciem. Butelkę lub worek z solą fizjologiczną należy schłodzić do 4 °C przed włożeniem do wymiennika ciepła. Jako rezerwuar cieczy można użyć każdego zestawu z NaCl, który jest dostępny w wyposażeniu szpitalnym. Sterylny roztwór NaCl może być zapakowany w giętki worek lub butelkę z tworzywa sztucznego. Dla NCH zaprojektowano dwa dedykowane zestawy drenów. Dreny wyposażone są w odpowiednie króćce, które pozwalają na połączenie całego zestawu w układ zamknięty w szybki i prosty sposób. Zaproponowane rozwiązanie jest tanie w konstrukcji. Zestaw doprowadzający ciecz chłodzącą do nakładki składa się z silikonowego drenu o średnicy wewnętrznej 3,1 mm, grubości ścianki 1,6 mm i średnicy zewnętrznej 6,3 mm. Jeden z końców drenu przystosowany jest do wklucia do rezerwuaru, zbiornika z cieczą chłodzącą i został wyposażony w złącze zakończone kolcem. Kolec umożliwia łatwe wklucie do dedykowanego portu w butelce lub worku z NaCl. Drugi koniec drenu doprowadzającego ciecz chłodzącą do nakładki może pozostać wolny lub może zostać zakończony szybko złączką. Długość drenu doprowadzającego ciecz do nakładki wynosi 3 m. Zestaw odprowadzający ciecz z nakładki chłodzącej został analogicznie zaprojektowany z użyciem drenów silikonowych o średnicy wewnętrznej 3,1 mm, grubości ścianki 1,6 mm i średnicy zewnętrznej 6,3 mm. Zestaw jest wyposażony w złączkę z kolcem, którą wbija się do rezerwuaru cieczy. Jeden z króćców może pozostać wolny bądź może być wyposażony w szybko złączkę. Do zabiegów z udziałem robotów chirurgicznych, czy zabiegów laparoskopowych, rekomenduje się użycie zestawów z szybką złączką. Użycie zwykłych króćców podczas operacji wymaga od chirurga nasunięcia drenu na złączkę, co w operacjach laparoskopowych może stanowić trudność. Zestaw drenu wyjściowego ma całkowitą długość równą 2,8 m. Długość przyłączy została wybrana w sposób doświadczalny poprzez symulację warunków pracy podczas zabiegu transplantacji. W wyniku rozmów z klinicystami potwierdzono długość zaproponowanych drenów przyłączeniowych. Elementy SCHN takie jak NCHN, rezerwuar cieczy, wymiennik ciepła oraz pompa należy podłączyć za pomocą drenów według schematu poniżej tworząc zamknięty układ przepływu cieczy chłodzącej.



Rysunek III.12. Układ połączenia zestawu chłodzącego.

Wymiennik ciepła (rękaw chłodzący) jest zaadaptowany do różnego rodzaju rezerwuarów cieczy chłodzącej (butelek lub worków z NaCl). Dren wejściowy jest odpowiednio długi, tak by mógł zostać przełożony przez pompę perystaltyczną odpowiedzialną za przepływ i dalej połączony jest z jednym z króćców NCHN. Drugi króciec NCHN łączony jest z drenem wyjściowym. Dren wyjściowy jest łączony z rezerwuarem cieczy. Układ chłodzący połączony według schematu powyżej tworzy układ zamknięty. Wraz z zaprojektowaniem nakładki chłodzącej zaprojektowano dedykowaną procedurę medyczną, którą zaleca się wykonać z użyciem NCHN w trakcie zabiegu transplantacji. Poniżej przedstawiono kroki procedury medycznej:

1. Przeszczep należy umieścić w NCHN.
2. Naczynia krwionośne i moczowód nerki należy przełożyć przez owalny otwór w pokrywie NCHN.
3. Zamknąć NCHN przy pomocy pasków wychodzących z pokrywy nakładki.
4. W chirurgii robotycznej przeszczep zamykany jest w nakładce chłodzącej, a następnie wprowadzany jest do jamy brzusznej przez nacięcie, w którym wcześniej umieszczany jest gel point. Dreny wejściowe i wyjściowe z nakładki przechodzą przez gel point.
5. W chirurgii otwartej przeszczep zamknięty w NCH wprowadzany jest do jam ciała poprzez standardowe nacięcie chirurgiczne. Dreny wejściowe i wyjściowe nakładki przechodzą przez to samo standardowe nacięcie chirurgiczne.
6. Wstępnie schłodzona butelka lub miękki worek ze sterylnym roztworem cieczy chłodzącej (NaCl) należy owinać wymiennikiem ciepła w postaci rękawa chłodzącego (lub umieścić w dowolnym wymienniku ciepła).

7. Dren wejściowy łączy port wylotowy zbiornika z cieczą chłodzącą z portem wejściowym NCHN. Przepływ cieczy chłodzącej wymuszany jest przez dren wejściowy przechodzący przez pompę.
8. Dren wyjściowy łączy króciec wyjściowy z NCHN z otworem wlotowym zbiornika na ciecz chłodzącą.
9. Pompa perystaltyczna zostaje uruchomiona. Ciecz chłodzący wypełnia NCHN. Miękkie ścianki NCHN rozszerzają się i doskonale przylegają do powierzchni nerki, zapewniając optymalny transfer energii cieplnej.
10. Owalny otwór na pokrywie NCHN umożliwia wygodny dostęp do wnęki nerkowej w celu wykonania zespolenia naczyniowego.
11. Zespolenie naczyniowe (tętnic i żył) oraz reimplantację moczowodu wykonuje się według standardowej procedury transplantacyjnej.
12. Po zakończeniu zespolenia naczyniowego i reperfuzji nerki, pokrywa NCHN jest rozcinana, a NCHN usuwana jest z pola operacyjnego.

3.5. Wnioski.

Wykonane modele nakładek, prototypy użyto w wykonanych doświadczeniach, które służyły do walidacji skuteczności działania NCHN w badaniach *ex vivo* opisanych w Rozdział VII. Gotowe prototypy użyto również w pomiarach dopplerowskich pola prędkości cieczy wewnątrz NCHN wykonanych w celu weryfikacji modelu MES przepływu cieczy wewnątrz skomplikowanego systemu kanałów NCHN, który to model był przydatny do projektowania położenia zgrzewów wewnętrznych, Rozdziały V i VI. Sprawdzono wytrzymałość zgrzewów uzyskanych podczas zgrzewania prądami wysokiej częstotliwości. Zaaplikowano różne ciśnienie w miejsce wejścia drenu. Ciśnienie o wartości 1,5 atm. tech. jest maksymalnym ciśnieniem, które można zaaplikować wewnątrz nakładki chłodzącej nie naruszając konstrukcji wewnętrznej kanałów oraz zgrzewów obwodowych. Nakładki chłodzące poddano procesowi mycia i sterylizacji. Proces mycia i walidacja procesu sterylizacji zostały zaprojektowane z uwzględnieniem konstrukcji NCH. Podczas procesu mycia ręcznego żaden z elementów konstrukcji nie uległ uszkodzeniu. Sterylizację wykonano z użyciem EtO. Tak przygotowane NCHN przekazano do dalszych badań *ex vivo* (Rozdział VII).

Podsumowując, w wyniku prac projektowych **zaprojektowano i wyprodukowano trzy rozmiary NCHN. Zaprojektowano całe innowacyjne urządzenie chłodzące**

do utrzymania niskiego rozkładu temperatury przeszczepu podczas zabiegu transplantacji. Modułowy SCHN składa się z wymiennika ciepła, rezerwuaru z cieczą chłodzącą NaCl (który może być dostarczany przez szpital w codziennej praktyce leczniczej), nakładek chłodzących (NCHN), elektrycznej pompy (pompy perystaltycznej) oraz elastycznych drenów tworzących układ zamknięty. Grubość nakładki chłodzącej została zaprojektowana, tak by NCHN odpowiednio przylegała do transplantu oraz zapewniona była wymiana ciepła przez przewodzenie. Nakładka chłodząca została wykonana z dwóch warstw termoplastycznego materiału między którymi przepływa ciecz chłodząca. Innowacyjne urządzenie medyczne jest kształtem dopasowane do anatomicznej struktury nerki. Zbudowane jest z odpowiednich kanałów, które odpowiadają za swobodny przepływ cieczy wewnątrz nakładki i eliminują martwe obszary przepływu. NCHN jest łatwa w aplikacji, może zostać użyta zarówno w operacjach w CHO jak i CHR. NCHN może być używana z różnymi wymiennikami ciepła. Konstrukcję NCH wyposażyliśmy w dodatkowe elementy takie jak wycięcie na naczynia, troki, paski do zamknięcia nakładki, które podwyższają użyteczność urządzenia. Wynikiem prac było złożenie **wniosku patentowego** na terenie Stanów Zjednoczonych. Wniosek pod tytułem „**Kidney cooling system**” został zaakceptowany 07/02/2021r przyjmując numer aplikacji **US 63/146,656**. (Załącznik).

ROZDZIAŁ IV

IV. Badania komórkowe *in vitro*

4.1. Cel i zasięg prac badawczych.

W celu zbliżenia się do wyjaśnienia na poziomie komórkowym wpływu drugiego ciepłego niedokrwienia w narządzie nerki, które odbywa się w czasie zabiegu transplantacji, podjęliśmy próbę zbadania wpływu reżimu zmian temperatury na przeżywalność ludzkich komórek w hodowli *in vitro*. Zaobserwowano, że zbyt gwałtowne ogrzanie schłodzonych komórek do temperatury organizmu może zmniejszyć ich szanse na przeżycie po uruchomieniu źródeł metabolizmu. Przeżycie komórek nerki wszczepianej pacjentowi po podłączeniu do krwioobiegu w czasie przeszczepu zależy silnie od wariantu wzrostu temperatury schłodzonego transplantu. Jeśli wzrost ten wystąpi zbyt szybko przeszczep zostanie odrzucony. Zdajemy sobie sprawę, że wnioskowanie o zachowaniu się komórek hodowanych *in vitro*, szczególnie unieśmiertelnionych linii komórkowych, nie jest bezpośrednio związane z zachowaniem się komórek wewnątrz organu oraz całego narządu nerki. Jednakże mechanizmy biologiczne i biochemiczne reakcji na zmianę temperatury z pewnością są wspólne na poziomie komórkowym i zachodzą podobnie w komórkach, z których narząd nerki jest zbudowany. Poniżej opisane badanie ograniczyło się do określenia, jak różne warianty zmiany temperatury wpływają na przeżywalność hodowanych linii komórkowych. Przeżywalność zmierzono testami przeżywalności komórek [Ediriweera 2019].

Procesy życiowe na poziomie molekularnym są zależnymi od temperatury reakcjami chemicznymi, których sumą jest metabolizm. W medycynie transplantacyjnej utrzymywanie komórek przy życiu dzięki zapewnieniu im odpowiednio niskiej temperatury opiera się na obserwacji, że podobnie jak w przypadku kinetyki każdej reakcji chemicznej, również metabolizm można zmniejszyć obniżając temperaturę, [Rubinsky 2003], [Bellini 2019]. Zbadano doświadczalnie, że temperatura 4 °C jest optymalna do przeżywalności komórek przez dość długi czas bez dostarczania im naturalnych składników podtrzymujących procesy życiowe. Powoduje ona prawie całkowite zahamowanie metabolizmu i zapewnia zahamowanie niekorzystnych procesów chemicznych zachodzących w komórkach i organach *ex vivo*. Śmierć komórki i późniejsze zmiany pośmiertne, zwane martwicą, są integralną częścią prawidłowego cyklu rozwoju i dojrzewania komórki. Pomimo znaczenia tego procesu, mechanizmy leżące u podstaw śmierci komórki są nadal niedostatecznie poznane. W literaturze naukowej mówi się, że śmierć komórki następuje w dwóch alternatywnych,

przeciwstawnych trybach: apoptozie, zaprogramowanej, kontrolowanej formie śmierci komórki oraz martwicy, nieuporządkowanej i przypadkowej formie umierania komórek. W pracy przeglądowej [Kanduc 2002] omówiono zarówno badania podstawowe opracowane wówczas w tej dziedzinie oraz problemy, które były do rozwiązania w zakresie definiowania zarówno eksperymentalnie, jak i mechanicznie zdarzeń, które prowadzą do i charakteryzują śmierć komórki. Ostatnio, opublikowano artykuł [Galluzzi 2018], w którym przedstawiono definicje i interpretacje śmierci komórki z perspektywy morfologicznej, biochemicznej i funkcjonalnej. Ponieważ dziedzina ta wciąż się rozszerza i odkrywane są nowe mechanizmy, które organizują wiele szlaków śmierci komórkowej, zaktualizowano klasyfikację podprogramów śmierci komórkowej, skupiającą się na mechanistycznych i biochemicznych aspektach tego procesu. Prowadzone przez nas badania będą umożliwiły pomiar różnych stanów komórek w różnych wariantach termicznych.

4.2. Materiał i metoda badawcza badań komórkowych *in vitro*.

Na podstawie przeprowadzonych badań *in vitro* opracowano wstępne kryteria termiczne zapewniające przeżywalność komórek podczas transplantacji. Doświadczalnie opracowano procedury hodowli różnych linii komórkowych hodowanych w laboratorium *in vitro* w różnych wariantach reżimu wzrostu temperatury. Następnie, na wybranej linii komórkowej, przeprowadzono test oceny aktywności metabolicznej komórek. Doświadczenia *in vitro* przeprowadzono w 3 powtórzeniach technicznych dla każdej z linii komórkowej. Każde z prezentowanych doświadczeń przeprowadzono minimum dwukrotnie, ale wyniki przedstawiono dla jednej z prób. W doświadczeniu użyto komórek:

- **L929** tj. linia komórek fibroblastopodobnych otrzymanych z podskórnej tkanki tłuszczowej myszy;
- **HEK-293** tj. linia ludzkich zarodkowych komórek nerki;
- **Caki1** tj. linia komórek raka nerkowo komórkowego.

W oddzielnych butelkach hodowlanych wysiano trzy linie komórek, a następnie dodano medium hodowlane złożone z α -MEM suplementowanym w 10% surowicą bydlęcą (FBS), 1% penicyliną oraz w 1% streptomycyną. Komórki hodowano w inkubatorze w temperaturze 37°C i atmosferze 5% CO₂. Po kilku dniach hodowli, gdy osiągnięto 100% konfluencji, komórki odklejono od powierzchni naczynia hodowlanego za pomocą roztworu trypsyny (TrypLE™ Express Enzyme) oraz przepłukano solą fizjologiczną buforowaną fosforanami (PBS) i odwirowano, przez 5 min przy 250g. Żywość oraz gęstość komórek w zawiesinach

określano w barwieniu błękitem trypanu (Trypan Blue, dye) w komorze Burkera. Do doświadczeń wykorzystywano próby, w których żywotność komórek wynosiła więcej niż 80%. Przygotowano zawiesiny komórek o gęstości 1×10^6 komórek/ml w PBS (sól fizjologiczna buforowana fosforanami, o pH i sile osmotycznej, umożliwiających przeżycie komórek, ale ograniczając ich metabolizm, co ma imitować narząd po usunięciu z organizmu i odłączeniu od krwioobiegu). Komórki umieszczono w probówkach po 100 μ l. Wszystkie trzy linie poddano działaniu różnym wariantom temperaturowym, a następnie wykonano test z wykorzystaniem 7-AAD i aneksyny (eBioscience) wykonując analizę na cytometrze przepływowym (CytoFlex, BeckmanCoulter). Na jednej z linii w celu określenia przeżywalności, komórki po ekspozycji na różne warianty temperaturowe wysiano na płytkę 96 dołkową, dopełniono pożywką hodowlaną i hodowano je w standardowych warunkach in vitro, po 24 godzinach wykonano test określający aktywność metaboliczną komórek (Test MTT), co miało dodatkowo określić wpływ temperatury na przywrócenie funkcjonalności komórek. Aktywność metaboliczną komórek wyznaczono poprzez określenie aktywności mitochondrialnej komórek linii L929. Ilość aktywnych metabolicznie komórek określono przy użyciu soli tetrazolowej. Za redukcję tego związku w komórce odpowiedzialne są enzymy mitochondrialne. W tym celu z dołków hodowli komórek usunięto medium hodowlane MEM zawierające MTT w stężeniu 0.5 mg/ml. Płytki wielo-dołkowe inkubowano w 37°C przez 2 godziny. Po zadanyim czasie usunięto roztwór z dołków i zalano izopropanolem w celu wypłukania formazanu z komórek. Z każdego z dołków odciągnięto 100 μ l i przeniesiono do płytki 96 dołkowej w celu wykonania pomiaru absorbancji. Absorbancję roztworów zmierzono przy długości fali 570 nm w czytniku płytek (Multiscan GO, ThermoScientific).

Tabela IV.1. Lista i skład stosowanych buforów.

| Nazwa skrócona/handlowa | Pełna nazwa; wykorzystanie |
|--------------------------|--|
| MEM | Medium do hodowli komórek, płynne, pożywka minimalna. |
| FBS | Płodowa surowica bydłęca, źródło czynników wzrostu dla komórek. |
| Penicylina-Streptomecyna | Antybiotyk Penicylina / Streptomecyna dla kultur tkankowych. |
| PBS | Sól fizjologiczna buforowana fosforanami, bufor do przemywania. |
| Trypsyna | TrypLE™ Express Enzyme |
| Test na apoptozę | Annexin V Apoptosis Detection Kit PE, Zestaw do wykrywania apoptozy komórek. |
| Test MTT | Bromek 3-(4,5-dimetylotiazol-2ylo)-2,5-difenylo-tetrazoliowy (MTT) $\geq 98\%$. |
| Izopropanol | Rozpuszczalnik wykorzystywany w teście MTT. |

4.3. Wyniki i analiza.

A. Faza 0

Badania komórkowe *in vitro* składały się z trzech faz (Faza 0, Faza nr 1 oraz Faza nr 2). W fazie wstępnej 0 oceniono, czy unieśmiertelnione linie komórkowe są wystarczająco wrażliwe na zmiany temperatury w czasie odpowiadającym zabiegowi transplantacji. Komórki trzech testowanych linii komórkowych, w suboptymalnych warunkach (w zawiesinie, w PBS) inkubowano przez godzinę w stałej temperaturze 4°C (na lodzie, co jest standardem w biologii komórkowej) oraz w temperaturze 37°C (w cieplarni). Następnie, oceniano procent żywych komórek w teście żywotności na urządzeniu Muse (Merck).

Tabela IV.2 Procent [%] przeżywalności komórek w dwóch wariantach termicznych.

| Wariant termiczny | Linia komórkowa | Wynik pomiaru | | | |
|-------------------|-----------------|---------------|----------|----------|---------------------|
| | | Pomiar 1 | Pomiar 2 | Pomiar 3 | Średnia [%] ± SD |
| 4 °C | L929 | 87,83 | 89,26 | 88,96 | 88,68 ± 0,75 |
| | HEK-293 | 96,98 | 95,82 | 96,32 | 96,37 ± 0,58 |
| | Caki1 | 90,58 | 93,73 | 88,22 | 90,84 ± 2,76 |
| 37 °C | L929 | 68,13 | 68,53 | 67,94 | 68,20 ± 0,30 |
| | HEK-293 | 92,93 | 89,37 | 91,43 | 91,24 ± 1,79 |
| | Caki1 | 86,27 | 90,61 | 89,15 | 88,68 ± 2,21 |

Doświadczenie fazy 0 zilustrowało, że zaproponowany model doświadczenia jest wystarczający do wykrycia zmian przeżywalności komórek w różnych temperaturach. W przypadku wszystkich 3 badanych linii komórkowych, procent przeżywalności komórek jest wyższy w temperaturze 4 °C niżeli w 37 °C. Badanie 0 traktujemy jako symulację usunięcia narządu z organizmu i przygotowanie go do zabiegu transplantacji. Przeżywalność komórek w narządzie uprzednio schłodzonym do 4 °C jest wyższa niż w narządzie nie chłodzonym przed zabiegiem transplantacji.

B. Faza 1

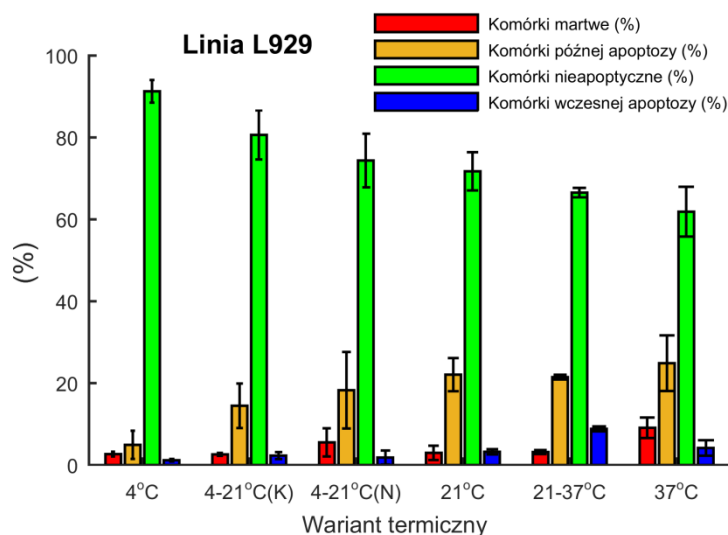
Po potwierdzeniu, że zaproponowany model może posłużyć do wyznaczenia wpływu dynamicznych zmian temperatury na przeżywalność komórek, przeprowadzono doświadczenia fazy nr 1, również z wykorzystaniem trzech linii komórkowych. Komórki

utrzymywano w różnych wariantach temperaturowych, opisanych w Tabeli IV.3, symulujących różne warunki przechowywania narządu do transplantacji, a następnie wykonano test na apoptozę. Wyznaczono procent komórek ogólnie nieapoptycznych (żywych), procent komórek, które uległy nekrozie oraz procent komórek, które znajdowały się we wczesnej oraz późnej fazie apoptozy. Na podstawie badania z fazy nr 1 wyznaczono linię komórkową, L929, która wykazywała największe zmiany przeżywalności w różnych wariantach i okazała się najbardziej wrażliwa na zmiany temperatury. Poddano ją dodatkowo ocenie aktywności metabolicznej (Faza 2) w celu określenia, czy po powrocie do optymalnych warunków hodowlanych, komórki z różnych warunków termicznych, powrócą do ich normalnego funkcjonowania. Globalnej oceny przeżywalności komórek w fazie nr 1 badania dokonano w różnych wariantach temperatury, które opisuje tabela poniżej.

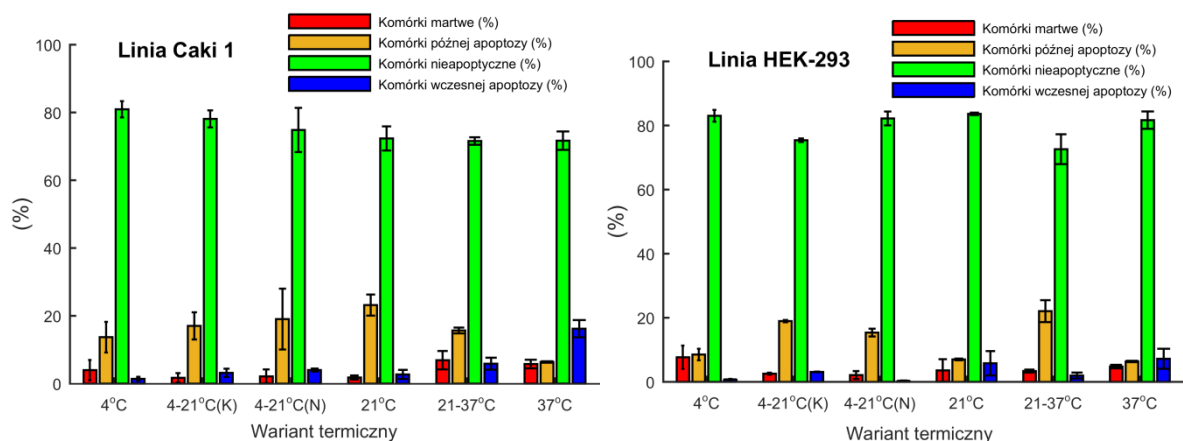
Tabela IV.3. Opis wariantu termicznego.

| Wariant termiczny | Warunki termiczne wariantu |
|-------------------|--|
| 4 °C | Komórki chłodzone w całej swojej objętości w lodzie do 4 °C. |
| 4-21 °C (K) | Komórki chłodzone w lodzie do 4 °C i w kontrolowanych warunkach termicznych ogrzane do 21 °C. |
| 4-21 °C (N) | Komórki schłodzone w lodzie do 4 °C i w nie kontrolowanych warunkach termicznych ogrzane do 21 °C. |
| 21 °C | Komórki utrzymane w temperaturze 21 °C. |
| 21-37 °C | Komórki utrzymane w temperaturze 21 °C i ogrzane do 37 °C w cieplarni. |
| 37 °C | Komórki ogrzane w całej objętości do 37 °C w cieplarni. |

Wzrost temperatury w grupie komórek dla warunków temperaturowych 4-21 °C przebiegał dwójako, w sposób kontrolowany (4-21 °C (K)) oraz niekontrolowany (4-21 °C (N)). Doświadczenie termiczne dla wariantu kontrolowanego wykonano z użyciem termocyklera (C1000, Biorad). Komórki o początkowej temperaturze 4 °C ogrzewano przez czas 60 minut z nastawą wzrostu temperatury o 1 °C co 3 minuty, aż do osiągnięcia temperatury 21 °C (temperatura pokojowa, panująca na Sali operacyjnej). Komórki ochłodzono do 4 °C, a następnie pozostawiono na blacie w laboratorium *in vitro* przez czas 60 min aż do spontanicznego osiągnięcia temperatury pokojowej (około 21 °C) określono wariantem termicznym niekontrolowany 4-21 °C (N). Poniżej na Wykres IV.1 oraz Wykres IV. 2 przedstawiono średnie wartości przeżywalności komórek dla wszystkich trzech linii komórkowych.



Wykres IV.1. Średnia wartość przeżywalności komórek linii L929 w zróżnicowanym reżimie temperaturowym.



Wykres IV.2. Średnia wartość przeżywalności komórek linii Caki 1 (wykres po lewej) oraz HEK-293 (wykres po prawej) w zróżnicowanym reżimie temperaturowym.

Z przeprowadzonego doświadczenia można wnioskować o większej odporności komórek na zmiany temperatury w liniach Caki1 oraz HEK-293 niżeli w linii L929. Dla komórek HEK nie odnotowano gwałtownego spadku przeżywalności komórek w żadnym zadanym wariantcie termicznym, natomiast komórki Caki1 wykazywały słabą tendencję spadku żywotności przy wyższych temperaturach. Największą przeżywalność komórek w temperaturze 4 °C odnotowano w linii L929, która też charakteryzowała się największym procentem komórek martwych w temperaturze 37 °C. Ze względu na planowane wykorzystanie NCHN w zabiegach transplantacji i podjętą próbę zniwelowania drugiego ciepłego niedokrwienia nerek wykonano badania termiczne w zakresie wzrostu temperatury od 4 °C do 21 °C. Poziom martwych komórek w próbie kontrolowanego wzrostu temperatury komórek (Wariant 4-21 °C(K)) był znacznie niższy dla każdej linii niżeli poziom martwych

komórek w niekontrolowanej (Wariant 4-21 °C(N)) próbie wzrostu temperatury w zadanych warunkach termicznych. Przeżywalność komórek w tych dwóch wariantach termicznych była wysoka. Procent komórek w fazie późnej apoptozy był wyższy w wariacie niekontrolowanego wzrostu temperatury (Wariant 4-21 °C(N)) niżeli w kontrolowanych warunkach wzrostu temperatury, co w dłuższej perspektywie mogłoby skutkować nieodwracalną śmiercią komórek. Nie zaobserwowano, aby któryś z testowanych wariantów temperatury preferencyjnie indukował konkretny typ śmierci komórkowej, za odsetek komórek martwych zwykle odpowiadały te w późnej fazie apoptozy. Jednak w liniach komórkowych L929 i Hek-293 w kontrolowanych warunkach wzrostu temperatury (Wariant 4-21 °C(K)) odnotowano większy procent komórek we wczesnej fazie apoptozy niżeli w doświadczeniu z niekontrolowanym wzrostem temperatury, co może sugerować, że wolny wzrost temperatury spowalnia aktywację/przebieg procesów prowadzących do śmierci komórek. Wraz ze wzrostem temperatury przeżywalność komórek wszystkich linii maleje, co potwierdza że utrzymanie niskiej temperatury w suboptymalnych warunkach dla komórek (brak kontaktu z powierzchnią hodowlaną, brak składników odżywczych lub organu (odłączenie od krwioobiegu), jest kluczowe dla zachowania dobrej żywotności komórek.

Poniżej w tabelach (Tabela IV.4 – IV.6) przedstawiono uzyskane wyniki z trzech powtórzeń procentowej przeżywalności komórek wszystkich trzech linii komórkowych.

Tabela IV.4. Globalna ocena przeżywalności komórek L929 w różnych wariantach termicznych.

| Linia komórek L929 | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------------------|-------|------|--------------|-----------------------------|-------|-------|--------------|---------------------------|-------|-------|--------------|-------------------------------|------|------|--------------|
| Wariant temperatury | Komórki martwe (%) | | | | Komórki późnej apoptozy (%) | | | | Komórki nieapoptyczne (%) | | | | Komórki wczesnej apoptozy (%) | | | |
| | Powtórzenie techniczne | | | | Powtórzenie techniczne | | | | Powtórzenie techniczne | | | | Powtórzenie techniczne | | | |
| | 1 | 2 | 3 | Średnia ± SD | 1 | 2 | 3 | Średnia ± SD | 1 | 2 | 3 | Średnia ± SD | 1 | 2 | 3 | Średnia ± SD |
| 4°C | 3,00 | 3,00 | 2,00 | 2,67±0,58 | 2,90 | 3,00 | 8,90 | 4,93±3,44 | 93,20 | 92,50 | 88,10 | 91,27±2,76 | 0,90 | 1,50 | 1,10 | 1,17±0,31 |
| 4 -21°C | 2,20 | 2,70 | 2,90 | 2,60±0,36 | 13,80 | 9,40 | 20,20 | 14,47±5,43 | 80,90 | 86,50 | 74,50 | 80,63±6,00 | 3,10 | 1,40 | 2,40 | 2,30±0,85 |
| 4°C -RT | 4,40 | 9,40 | 2,80 | 5,53±3,44 | 12,00 | 13,80 | 29,00 | 18,27±9,34 | 79,80 | 76,20 | 67,10 | 74,37±6,55 | 3,80 | 0,60 | 1,10 | 1,83±1,72 |
| RT | 2,50 | 4,90 | 1,50 | 2,97±1,75 | 17,40 | 24,70 | 24,10 | 22,07±4,05 | 76,90 | 67,80 | 70,50 | 71,73±4,67 | 3,20 | 2,60 | 3,90 | 3,23±0,65 |
| RT-37°C | 3,50 | 2,60 | 3,40 | 3,17±0,49 | 21,80 | 21,80 | 20,80 | 21,47±0,58 | 65,20 | 67,30 | 67,10 | 66,53±1,16 | 9,50 | 8,30 | 8,70 | 8,83±0,61 |
| 37°C | 9,10 | 11,60 | 6,60 | 9,10±2,50 | 32,20 | 18,80 | 23,60 | 24,87±6,79 | 55,20 | 63,30 | 67,10 | 61,87±6,08 | 3,50 | 6,30 | 2,70 | 4,17±1,89 |

Tabela IV.5. Globalna ocena przeżywalności komórek HEK-293 w różnych wariantach termicznych.

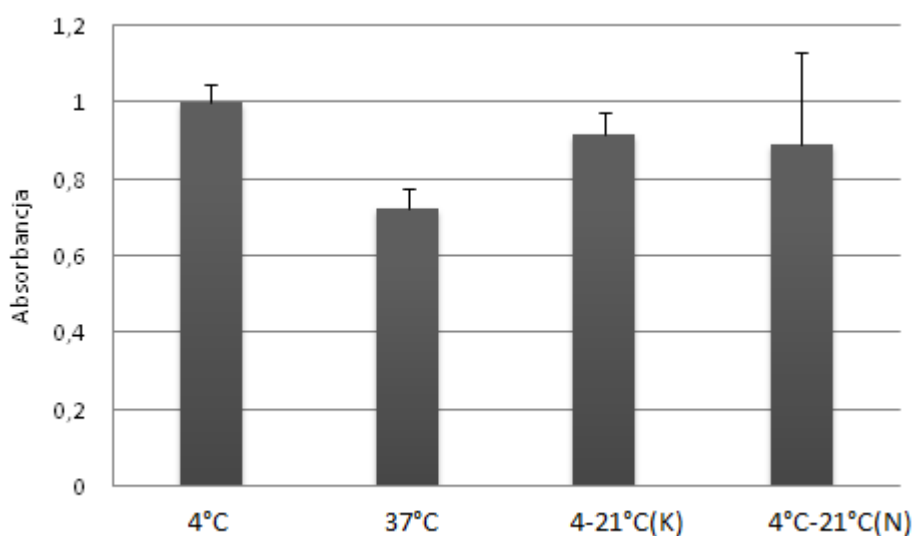
| Linia komórek HEK-293 | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------|------------------------|-------|------|--------------|-----------------------------|-------|-------|--------------|---------------------------|-------|-------|--------------|-------------------------------|------|------|--------------|
| Wariant temperatury | Komórki martwe (%) | | | | Komórki późnej apoptozy (%) | | | | Komórki nieapoptyczne (%) | | | | Komórki wczesnej apoptozy (%) | | | |
| | Powtórzenie techniczne | | | | Powtórzenie techniczne | | | | Powtórzenie techniczne | | | | Powtórzenie techniczne | | | |
| | 1 | 2 | 3 | Średnia ± SD | 1 | 2 | 3 | Średnia ± SD | 1 | 2 | 3 | Średnia ± SD | 1 | 2 | 3 | Średnia ± SD |
| 4°C | 7,50 | 11,40 | 4,10 | 7,67±3,65 | 8,40 | 6,80 | 10,40 | 8,53±1,80 | 83,50 | 81,00 | 84,60 | 83,03±1,84 | 0,60 | 0,80 | 0,90 | 0,77±0,15 |
| 4 -21°C | 2,80 | 2,20 | 2,65 | 2,55±0,31 | 19,30 | 18,60 | 18,95 | 18,95±0,35 | 74,90 | 76,00 | 75,30 | 75,40±0,56 | 3,00 | 3,20 | 3,10 | 3,10±0,10 |
| 4°C -RT | 3,45 | 1,90 | 1,00 | 2,12±1,24 | 15,80 | 16,30 | 14,00 | 15,37±1,21 | 80,40 | 81,60 | 84,60 | 82,20±2,16 | 0,35 | 0,20 | 0,40 | 0,32±0,10 |
| RT | 1,70 | 1,40 | 7,60 | 3,57±3,50 | 7,20 | 6,70 | 7,10 | 7,00±0,26 | 83,90 | 83,20 | 83,80 | 83,63±0,38 | 7,20 | 8,70 | 1,50 | 5,80±3,80 |
| RT-37°C | 3,20 | 3,00 | 3,90 | 3,37±0,47 | 21,60 | 18,90 | 25,70 | 22,07±3,42 | 74,00 | 76,40 | 67,40 | 72,60±4,66 | 1,20 | 1,70 | 3,00 | 1,97±0,93 |
| 37°C | 4,80 | 5,30 | 4,20 | 4,77±0,55 | 6,20 | 6,30 | 6,60 | 6,37±0,21 | 80,30 | 84,80 | 79,90 | 81,67±2,72 | 8,70 | 3,60 | 9,30 | 7,20±3,13 |

Tabela IV.6. Globalna ocena przeżywalności komórek Caki1 w różnych wariantach termicznych.

| Linia komórek Caki1 | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------------------------|-------|------|--------------|-----------------------------|-------|-------|--------------|---------------------------|-------|-------|--------------|-------------------------------|-------|-------|--------------|
| Wariant temperatury | Komórki martwe (%) | | | | Komórki późnej apoptozy (%) | | | | Komórki nieapoptyczne (%) | | | | Komórki wczesnej apoptozy (%) | | | |
| | Powtórzenie techniczne | | | | Powtórzenie techniczne | | | | Powtórzenie techniczne | | | | Powtórzenie techniczne | | | |
| | 1 | 2 | 3 | Średnia ± SD | 1 | 2 | 3 | Średnia ± SD | 1 | 2 | 3 | Średnia ± SD | 1 | 2 | 3 | Średnia ± SD |
| 4°C | 0,60 | 4,90 | 6,40 | 3,97±3,01 | 17,70 | 14,60 | 8,80 | 13,70±4,52 | 79,60 | 79,50 | 83,70 | 80,93±2,40 | 2,10 | 1,00 | 1,10 | 1,40±0,61 |
| 4 -21°C | 0,80 | 1,00 | 3,30 | 1,70±1,39 | 17,30 | 20,90 | 12,90 | 17,03±4,01 | 77,40 | 76,00 | 80,90 | 78,10±2,52 | 4,50 | 2,10 | 2,90 | 3,17±1,22 |
| 4°C -RT | 1,60 | 0,40 | 4,40 | 2,13±2,05 | 21,80 | 26,30 | 9,00 | 19,03±8,98 | 72,90 | 69,50 | 82,10 | 74,83±6,52 | 3,70 | 3,80 | 4,50 | 4,00±0,44 |
| RT | 1,40 | 1,50 | 2,50 | 1,80±0,61 | 19,90 | 23,50 | 26,10 | 23,17±3,11 | 76,40 | 70,80 | 69,80 | 72,33±3,56 | 2,30 | 4,20 | 1,60 | 2,70±1,35 |
| RT-37°C | 4,90 | 10,00 | 5,80 | 6,90±2,72 | 15,70 | 14,80 | 16,50 | 15,67±0,85 | 71,50 | 70,50 | 72,70 | 71,57±1,10 | 7,90 | 4,70 | 5,00 | 5,87±1,77 |
| 37°C | 4,80 | 5,30 | 7,20 | 5,77±1,27 | 6,20 | 6,30 | 6,60 | 6,37±0,21 | 70,30 | 74,80 | 69,90 | 71,67±2,72 | 18,70 | 13,60 | 16,30 | 16,20±2,55 |

C. Faza 2

Do określenia aktywności metabolicznej komórek wybrano komórki mysich fibroblastów, ponieważ linia ta wykazywała powtarzalność uzyskanych wyników oraz najbardziej widoczne zmiany żywotności w różnych wariantach temperatury. Dodatkowo linia komórek L929 jest wykorzystywana do oceny biologicznej (biogodności) wyrobów medycznych. Jest rekomendowaną linią komórkową wg normy [ISO 10993-1]. Wyniki aktywności metabolicznej komórek linii L929 przedstawiono poniżej (Wykres IV.3). Komórki inkubowane przez 24 h w 37 °C, po 24 h hodowli miały znacznie obniżoną aktywność metaboliczną w stosunku do komórek eksponowanych na temperaturę 4 °C, co może świadczyć, że mniej komórek przeżyło, zgodnie z wcześniej obserwowanymi wynikami apoptozy. Gdy wzrost temperatury ograniczono do 21 °C, aktywność komórek także była niższa niż tych trzymany na lodzie, ale utrzymała się na wyższym poziomie niż tych po umieszczeniu w 37 °C. Nie zaobserwowano jednak korzystnego na żywotność wpływu powolnego wzrostu, co poprzednio było widoczne w teście apoptozy. Wskazuje to, że w dłuższej hodowli podobna ilość komórek powróciła do aktywności w obu 2 wariantach reżimów temperaturowych. Nie wiadomo jednak, czy zjawisko to wystąpiłoby także w organie, gdzie komórki apoptyczne, których więcej było przy niekontrolowanym wzroście temperatury, mogłyby już zaindukować proces stanu zapalnego i niekorzystnie wpłynąć na stan organu po transplantacji.



Wykres IV.3. Średnie wartości absorbancji w teście MTT dla komórek L929 po 24 h hodowli po ekspozycji na różne warunki temperatury.

4.4. Wnioski.

Wstępne badania na poziomie *in vitro* nie mogą być równoważne z badaniami prowadzonymi *ex vivo* oraz *in vivo*. Stanowią jednak cenną informację o potencjalnym molekularnym mechanizmie działania związków w komórkach i są podstawą do dalszych eksperymentów w tym kierunku. Na podstawie badań doświadczalnych *in vitro* na komórkach linii L929, HEK-293 oraz Caki1 zilustrowano wyższość chłodzenia komórek nad utrzymaniem ich w temperaturze organizmu w celu zachowania jak najdłużej ich wysokiej żywotności. Można wnioskować, że badania komórkowe fazy 0 potwierdziły potrzebę chłodzenia narządów przygotowywanych do procedury transplantacji. Faza 0 badania zwróciła również uwagę na różną wrażliwość i odporność temperaturową zależną od linii komórkowej. Faza 1 badania potwierdziła różną odporność i odpowiedź poszczególnych linii komórkowych na różne zmiany temperatury. Ze względu na brak znaczących różnic między liniami HEK-293 oraz Caki1, natomiast ze względu na wrażliwość i powtarzalność odpowiedzi na zmiany temperatury w linii L929, tę linię komórek wytypowano do zbadania aktywności metabolicznej komórek podanych różnemu reżimowi zmian temperatury. Choć powolny wzrost temperatury potwierdził ograniczenie apoptozy komórek, nie potwierdzono, że tempo zmiany temperatury wpływa na żywotność komórek w dłuższym okresie. Po 24 h hodowli aktywność komórek była wyższa po ekspozycji na temperaturę pokojową niż ekspozycji na temperaturę organizmu, ale nie stwierdzono korzystnego wpływu kontrolowanego, powolnego ocieplania środowiska komórek na ich aktywność po powrocie do optymalnych dla warunków wzrostu. Choć w badaniach *in vitro*, potwierdzono, że powolny wzrost temperatury, bez osiągnięcia 37 °C, istotnie spowalnia indukcję apoptozy i procesów śmierci komórkowej, określenie jak krótkotrwała ekspozycja organu na zmiany temperatury wpłynie na jego przeżywalność i przyjęcie przeszczepu, wymaga bardziej skomplikowanego modelu niż jednorodnie hodowane linie komórkowe hodowane *in vitro*.

ROZDZIAŁ V

V. Wykorzystanie modelowania numerycznego w projektowaniu formy NCHN

Opisane w tym rozdziale modele numeryczne projektowano równoległe z modelem konstrukcji nakładki chłodzącej. Symulacje numeryczne wykonano dla każdej propozycji konstrukcji nakładki chłodzącej nerkę, NCHN.

5.1. Cel i zasięg prac badawczo-projektowych.

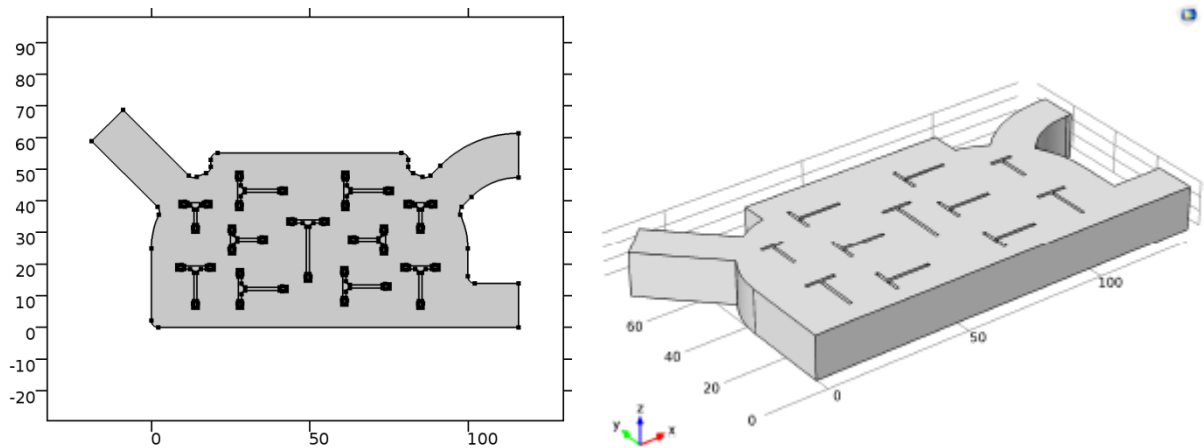
Celem badań numerycznych było wsparcie procesu projektowania NCH oraz zweryfikowanie koncepcji projektowanego modelu konstrukcji NCHN. Badania numeryczne wykonywano równoległe, każdorazowo po zaprojektowaniu nowej konstrukcji NCH. Symulacje numeryczne traktujemy jako dodatkowe narzędzie inżynierskie wspomagające proces projektowania. Zakładamy, że odpowiedni rozkład temperatury związany jest z laminarnym przepływem cieczy. Dodatkowo NCHN projektowano tak, aby wyeliminować martwe obszary oraz uniknąć dużych nierównomierności w przepływie. Martwe obszary w nakładce to miejsca, przez które ciecz chłodząca nie przepływa. Brak przepływu i wymiany ciepła identyfikowany jest z brakiem chłodzenia narządu. Wykonane symulacje numeryczne miały w przybliżony sposób pokazać jak ciecz chłodząca przepływa przez nakładkę oraz czy istnieją zastoje w przepływie. Weryfikacją modelowania numerycznego, a więc powstałej konstrukcji NCHN są dodatkowe badania ultradźwiękowe z użyciem Dopplera przedstawione w Rozdziale VI. Poniżej pokazano symulacje numeryczne rozkładu pola temperatury wewnątrz nerki, gdy chłodzenie nerki odbywa się przy użyciu NCH. Dodatkowo, obliczono rozkład temperatury wewnątrz chłodzonej nerki w warunkach termicznych odpowiadających warunkom panującym w chirurgii otwartej (CHO) jak i chirurgii otwartej (CHO).

5.2. Materiał i metoda elementów skończonych.

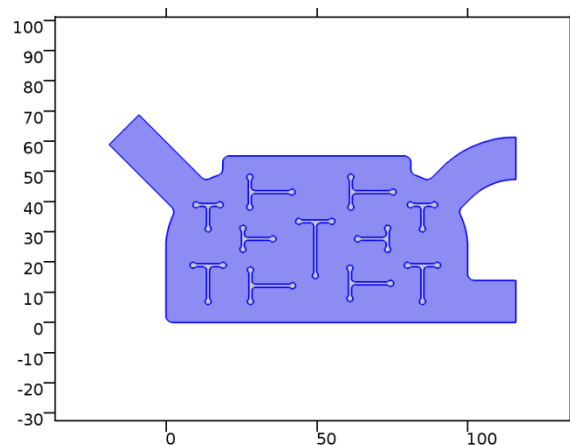
Metodyka wykonania symulacji numerycznej.

Model nakładki 2D i 3D zaimportowano do środowiska numerycznego z programu inżynierskiego Solid Works (Rysunek V.1). Symulacje numeryczne wykonano w oprogramowaniu COMSOL Multiphysics 5.2. Zadanie numeryczne polegało na obliczeniu przepływu wewnątrz nakładki oraz oszacowaniu rozkładu temperatury. Zgrzewy w postaci

liter „T” tworzą wewnątrz nakładki specyficzne kanały z przegrodami przez które przepływa ciecz chłodząca. Wykonane zadanie numeryczne było zadaniem stacjonarnym. Domenę modelu oraz materiał zdefiniowano jako ciecz - woda. (Rysunek V.2.)



Rysunek V.1. Zaimportowany model nakładki w rozmiarze S.



Rysunek V.2. Domena modelu.

Model matematyczny opisujący przepływ płynu chłodzącego w obszarze, którego brzeg jest ogrzewany w zadany sposób. Wykorzystujemy równania hydrodynamiki oraz równania transportu ciepła sprzężone z równaniem przepływu płynu w obszarze. Równanie Naviera - Stokesa ruchu cieczy ma ogólna postać:

$$\underbrace{\rho \left(\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla \mathbf{u} \right)}_1 = \underbrace{-\nabla p}_2 + \underbrace{\nabla \cdot (\mu (\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T)) - \frac{2}{3} \mu (\nabla \cdot \mathbf{u}) \mathbf{I}}_3 + \underbrace{\mathbf{F}}_4$$

gdzie: \mathbf{u} - jest prędkością płynu, a p - jest ciśnieniem płynu, ρ - jest gęstością płynu, a μ - jest lepkością dynamiczną płynu. Kolejne człony równania odpowiadają odpowiednio: (1) - siłom

bezwładności, (2) - siłom nacisku, (3) - siłom lepkości i (4) - masowym siłom zewnętrznym przykładanym do płynu. Są to trzy równania na składowe prędkości płynu.

W użytej w zapisie równania konwencji "·" oznacza proste nasunięcie, symbol „∇” jest wektorem gradientu, górny indeks „T” oznacza operację transpozycji tensora o walencji 2, a symbol „I” oznacza jedynekę tensorową.

Równanie przewodnictwa cieplnego, bez masowych źródeł zewnętrznych, wymuszonego przepływem płynu (równanie konwekcji ciepła) w obszarze przepływu ma postać:

$$\rho C_p \left(\frac{\partial T}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla T \right) = \nabla \cdot \mathbf{q},$$

gdzie C_p - to ciepło właściwe płynu, T temperatura, i \mathbf{q} wektor strumienia ciepła. Zakładamy liniowe prawo Fouriera, czyli proporcjonalność strumienia ciepła do gradientu temperatury $\mathbf{q} = k \nabla T$, gdzie k jest współczynnikiem przewodnictwa cieplnego płynu. Zakładamy, że przepływ jest nieściśliwy, co oznacza, że nie ma zmian objętości płynu w czasie ruchu $\rho \nabla \cdot \mathbf{u} = 0$. Dodatkowo zakładamy stacjonarność i laminarność przepływu, oraz brak zewnętrznych sił masowych wymuszających ruch cieczy, co prowadzi do uproszczonego równania Naviera-Stokesa w postaci, w której znika człon z pochodną czasową prędkości oraz człon sił masowych (4).

Laminarny przepływ jest sprzężony z zadaniem termicznym. Ciecz przenosząca ciepło bądź zimno wykorzystywana jest w różnych aplikacjach przemysłowych wymagających chłodzenia czy ogrzewania. Zwykle są to zamknięte i ciągłe obiegi cieczy. Dla uproszczenia obliczeń zakładamy, że właściwości płynu są stałe w rozważanym zakresie temperatur (4 – 15 °C). Tak więc sprzężenie temperatury i przepływu płynu jest tutaj „jednostronne”, zmiany temperatury nie wpływają na zmiany właściwości materiału. Rozkład temperatury wewnątrz NCHN jest spowodowany tylko przepływem płynu oraz wpływem warunków brzegowych. Poniżej przedstawiono warunki brzegowe oraz początkowe dla płaskiego zadania numerycznego przepływu sprzężonego z przewodnictwem ciepła przez konwekcję. Wykonywano również symulacje numeryczne przepływu dla modelu 3D NCHN. Jednak nie odnotowano znaczących zmian w rozkładzie przepływu jak i temperatury, dlatego ze względu na złożoność obliczeniową modelu 3D wybrano do dalszych analiz model 2D NCHN. Model 2D nakładki uznano jako równoważny modelowi 3D nakładki. Prosty model 2D konstrukcji NCH stanowił pomoc podczas projektowania wewnętrznych przegród w nakładce, patrz Rozdział III.

Warunki początkowe i brzegowe

Warunki początkowe dla symulacji numerycznej zdefiniowano w domenie jak w Tabeli V.1.

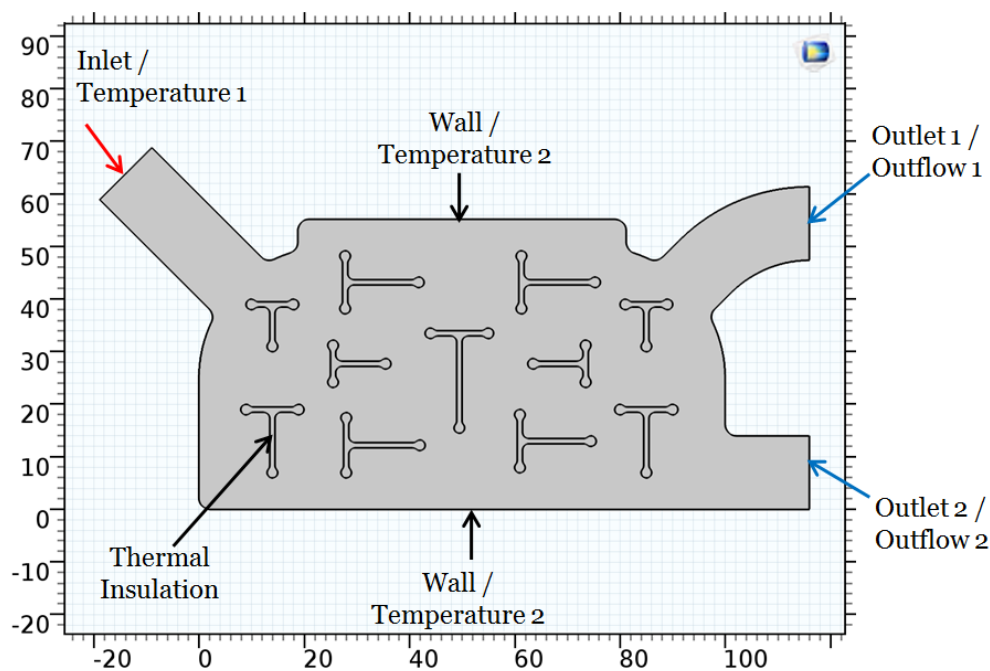
Tabela V.1. Warunki początkowe dla sprzężonego zadania w programie COMSOL-Multiphysics.

| Study | Description | Value | Unit |
|-------------------------|----------------|--------|------|
| LaminarFlow | Velocity field | 0,00 | m/s |
| | Pressure | 0,00 | Pa |
| Heat Transfer in Fluids | Temperature | 277,00 | K |

Warunki brzegowe zadania sprzężonego określone w zadaniu zaznaczono na rysunku poniżej (Rysunek V.3.). Parametry użyte w symulacji przedstawia Tabela V.2.

Tabela V.2. Parametry modelu i warunki brzegowe dla sprzężonego zadania w programie COMSOL-Multiphysics.

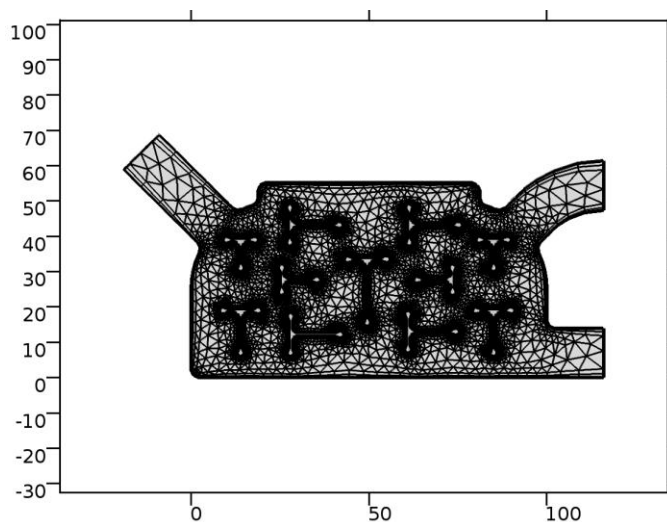
| Study | Boundary Condition | Description | Value | Unit |
|-------------------------|---------------------|----------------------|--------|------|
| LaminarFlow | Wall1 | No slip | - | - |
| | Inlet 1 | Normalinflowvelocity | 0,19 | m/s |
| | Outlet 1 | Pressure | 0,00 | Pa |
| | Outlet 2 | Pressure | 0,00 | Pa |
| Heat Transfer in Fluids | ThermalInsulation 1 | | | |
| | Temperature 1 | Temperature | 277,00 | K |
| | Temperature 2 | Temperature | 309,00 | K |
| | Outflow 1 | | | |
| | Outflow 2 | | | |



Rysunek V.3. Schematyczne oznaczenie warunków brzegowych.

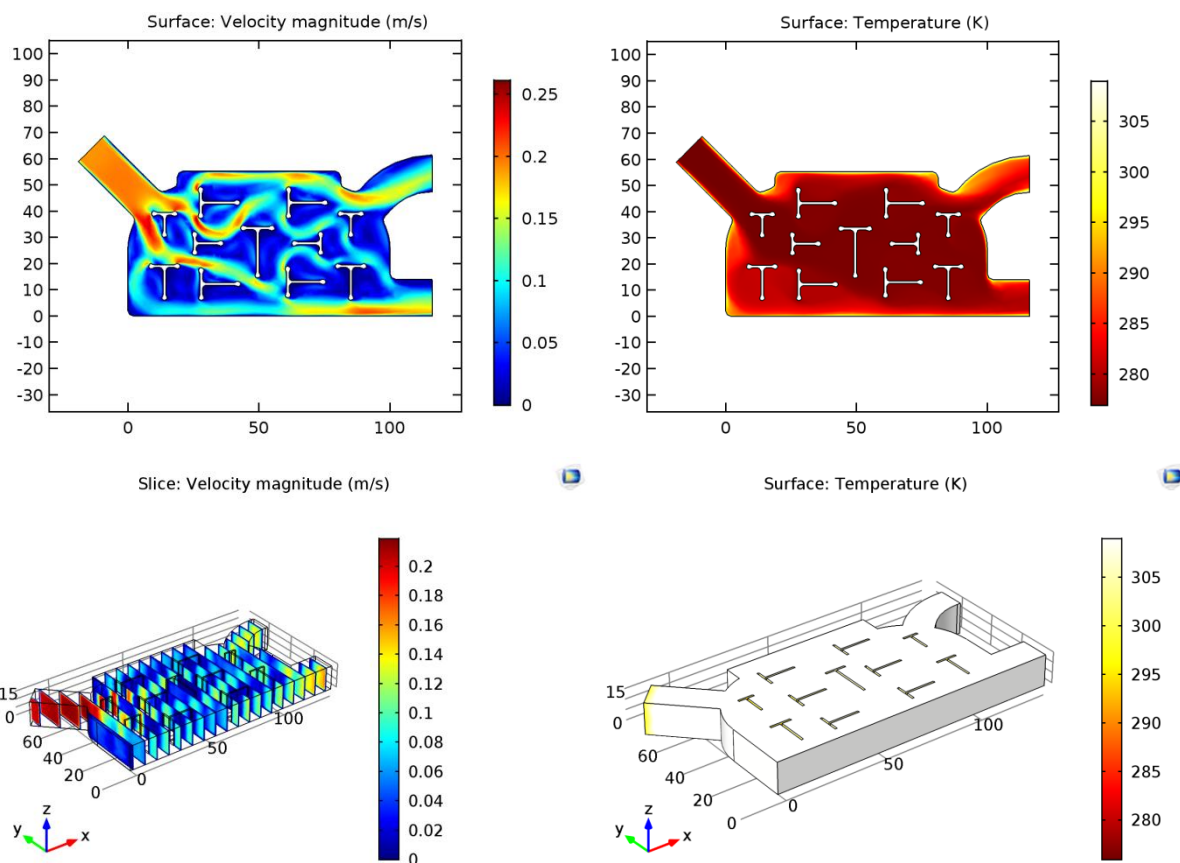
Na Rys. V.3. oznaczono jako „Inlet” wpływ cieczy chłodzącej, Temperature / Wall to zadana temperatura na liniach modelu, Thermal Insulation to izolacja termiczna w miejscach zgrzewu

liter "T", Outlet / Outflow to wyjście płynu chłodzącego. W zadaniu numerycznym zdefiniowano siatkę składającą się z elementów trójkątnych jak i czworokątnych. Łączna liczba elementów trójkątnych wynosiła 8342, liczba elementów czworokątnych równała się 1672. Maksymalny rozmiar elementu skończonego określono jako 44,5 zaś minimalny rozmiar elementu skończonego to 6,74. Predefiniowany rozmiar siatki wybrano jako ekstremalnie duży. Poniżej zilustrowano siatkę numeryczną dla NCHN w rozmiarze S (Rysunek V.4).



Rysunek V.4. Siatka numeryczna nałożona na model NCHN.

Wynikiem rozwiązania zadania sprzężonego jest otrzymanie graficznej ścieżki przepływu oraz przybliżonego rozkładu temperatury. Przedstawione rysunki poniżej stanowią wynik dla przeprowadzonych symulacji, które wykonano w celu oszacowania poprawnego przepływu cieczy chłodzącej w NCHN. Poniżej przedstawiono rysunki 2D symulacji numerycznej jak i wyniki symulacji dla modelu 3D, który uznano za równoważny do 2D.



Rysunek V.5. Wynik symulacji numerycznej 2D i 3D.

Prosty proces optymalizacji konstrukcji NCHN.

Optymalizacja kształtu nakładki składała się z dwóch etapów. Zgodnie z powyższym opisem metodyki wykonania symulacji numerycznej przygotowano modele do analizy optymalizacji. W pierwszym etapie, proces optymalizacji konstrukcji NCHN polegał na zaprojektowaniu różnych wariantów konstrukcji w programie Solid Works, a następnie zbadaniu numerycznie jak w danym rozwiązaniu technicznym ciecz wypełnia NCH. Analizie i ocenie podlegała głównie wewnętrzna część NCHN tzn. przeanalizowano różne warianty rozmieszczenia wewnętrznych przegród NCH. W drugim etapie wykonano prostą analizę prędkości przepływu cieczy chłodzącej w nakładce oraz zbadano występowanie obszarów martwych w projektowanej konstrukcji. Przeanalizowano, jak ułożenie przegród w finalnym modelu nakładki wpływa na rozkład prędkości cieczy. Analizę martwych obszarów oraz prędkości przepływu wykonano z użyciem programu Matlab. Procentową liczbę martwych obszarów oraz obszarów w których ciecz chłodząca płynęła powyżej ustalonego progu obliczono z wykorzystaniem funkcji `im2bw`. Komenda ta pozwala na konwersję obrazu o rozszerzeniu .png na obraz binarny. Dalej utworzono macierz obrazu i obliczano stosunek procentowy obszarów w którym ciecz nie płynęła, płynęła z wysoką prędkością względem całkowitego

rozkładu prędkości w NCH. Martwe obszary przepływu określono jako obszary w których prędkość osiąga maksymalną wartość 0,01 m/s. Obszary o wysokiej prędkości przepływu to obszary powyżej 0,1 m/s. Konstrukcję NCHN (3 rozmiary nakładek) nie zostały wykonane poprzez ze skalowanie modelu nakładki, każdą z konstrukcji opracowano indywidualnie. W niniejszym rozdziale pracy przedstawiono metodykę działania i uzyskane wyniki dla NCHN w rozmiarze S.

Symulacja Interakcja NCHN z narządem nerki.

W pracy podjęto próbę oszacowania rozkładu temperatury, jaki będzie panował w nerce przy chłodzeniu z użyciem NCH. Wykonano modele płaskie 2D stanowiące przekrój poprzeczny i podłużny nerki jak i model 3D całego narządu nerki (Rysunek V.6). Wykonano także symulację interakcji NCH z nerką, włożoną w NCHN (Rysunek V.7.). W przedstawionych modelach zaznaczono 4 rodzaje materiałów, które zostały użyte w symulacjach numerycznych. Z biblioteki programu COMSOL wybrano 2 materiały takie jak woda i powietrze. Do środowiska programistycznego wprowadzono dodatkowy materiał jak nerka i krew o następujących właściwościach termicznych (Tabela V.3). Dane pochodzą ze strony: <https://itis.swiss/virtual-population/tissue-properties/database/>. Mimo iż, zakłada się wykorzystanie NaCl jako cieczy chłodzącej w NCHN to w symulacjach numerycznych wybrano wodę, ponieważ posiada zbliżone właściwości termiczne do soli fizjologicznej. Rozkład temperatury w nerce chłodzonej NCH zbadano w dwóch wariantach termicznych, w symulacji zabiegu CHO jak i CHR. W symulacjach zabiegu CHO nerka chłodzona jest wodą, górna powierzchnia nerki otoczona jest powietrzem, zaś dolna i boczna krwią. W CHR nerka znajduje w NCH i otoczona jest ciałem pacjenta, krwią.

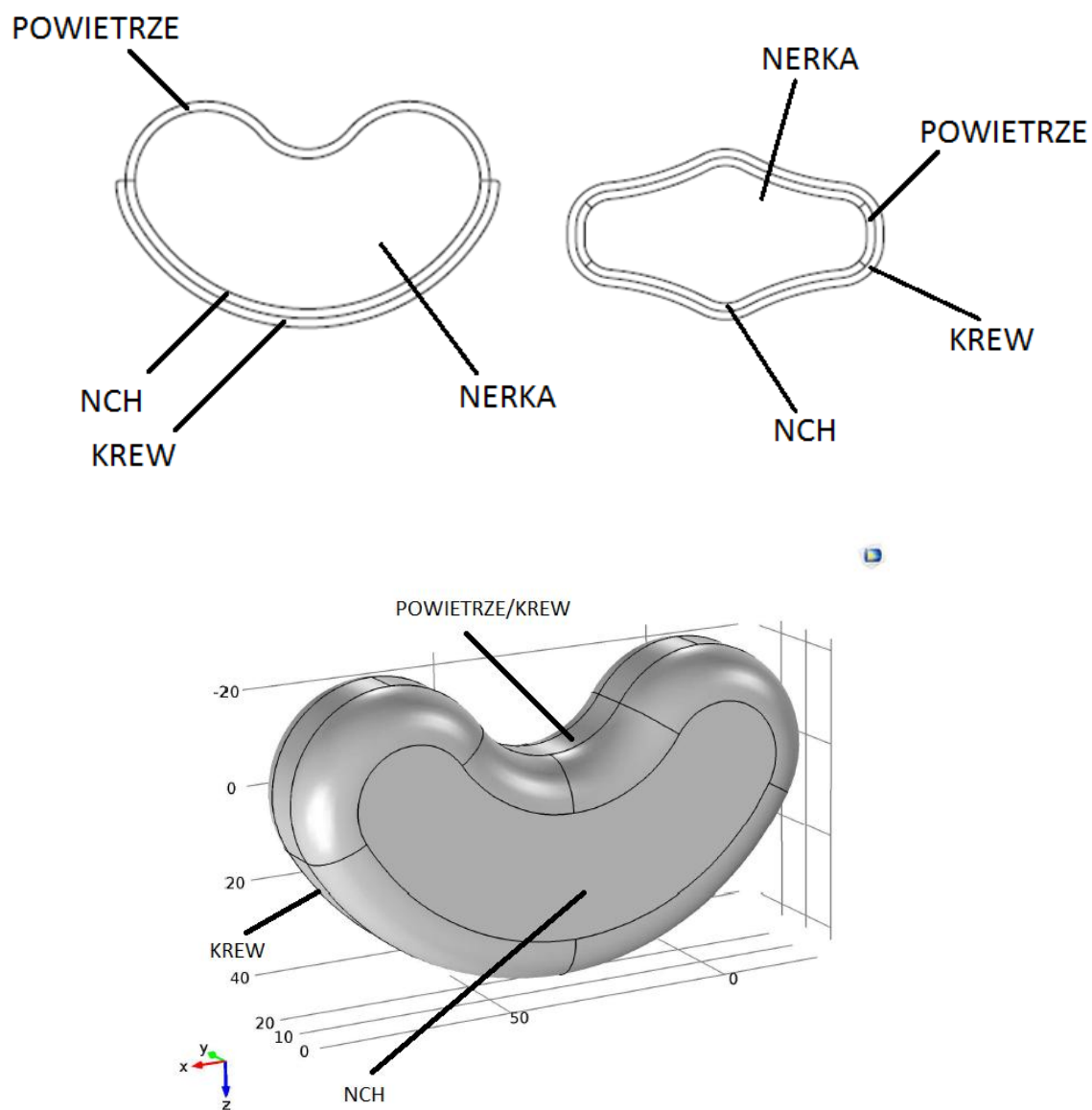
Tabela V.3. Właściwości termiczne materiałów.

| Materiał | | Nerka | Krew |
|-------------------------|-------------------|---------|------|
| Własność | Jednostka | Wartość | |
| Przewodność cieplna k | W/m ^{°C} | 0,53 | 0,52 |
| Gęstość ρ | kg/m ³ | 1066 | 1050 |
| Pojemność cieplna C_p | J/kg/°C | 3763 | 3617 |

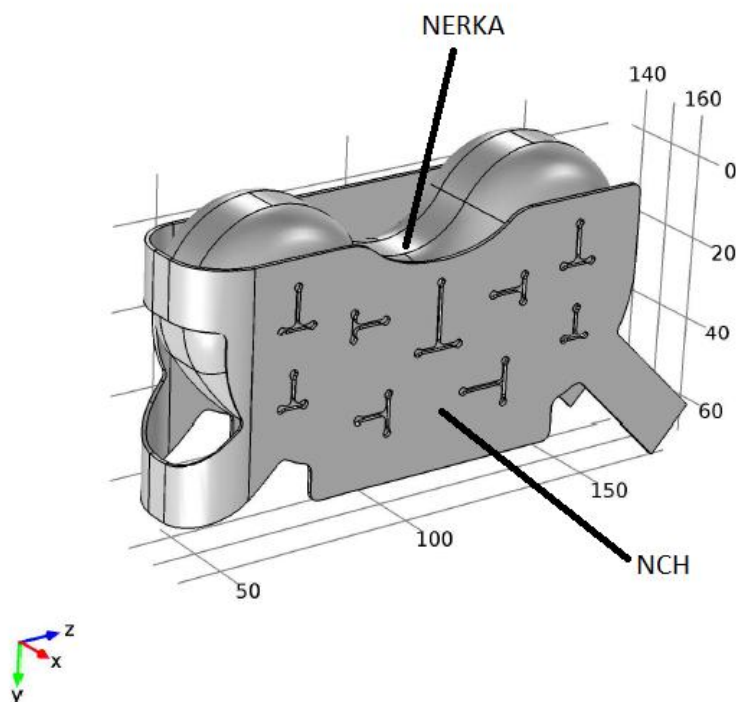
Tabela V.4 Warunki początkowe i brzegowe dla symulacji interakcji NCH a nerka.

| Study | Description | Value | Unit |
|------------------------|---------------|-----------------|------|
| Heat Transfer in Solid | Temperature 1 | 277,00 | K |
| | Temperature 2 | 309,00 / 303,00 | K |
| | Temperature 3 | 293,15 | K |

Gdzie: Temperatura 1 (T_1) została przypisana do obszaru nerka, NCHN; Temperatura 2 (T_2) została przypisana dla obszaru krew; Temperatura 3 (T_3) charakteryzuje obszar dla powietrza.



Rysunek V.6. Przekrój 2D poprzeczny i podłużny nerki oraz model 3D nerki.



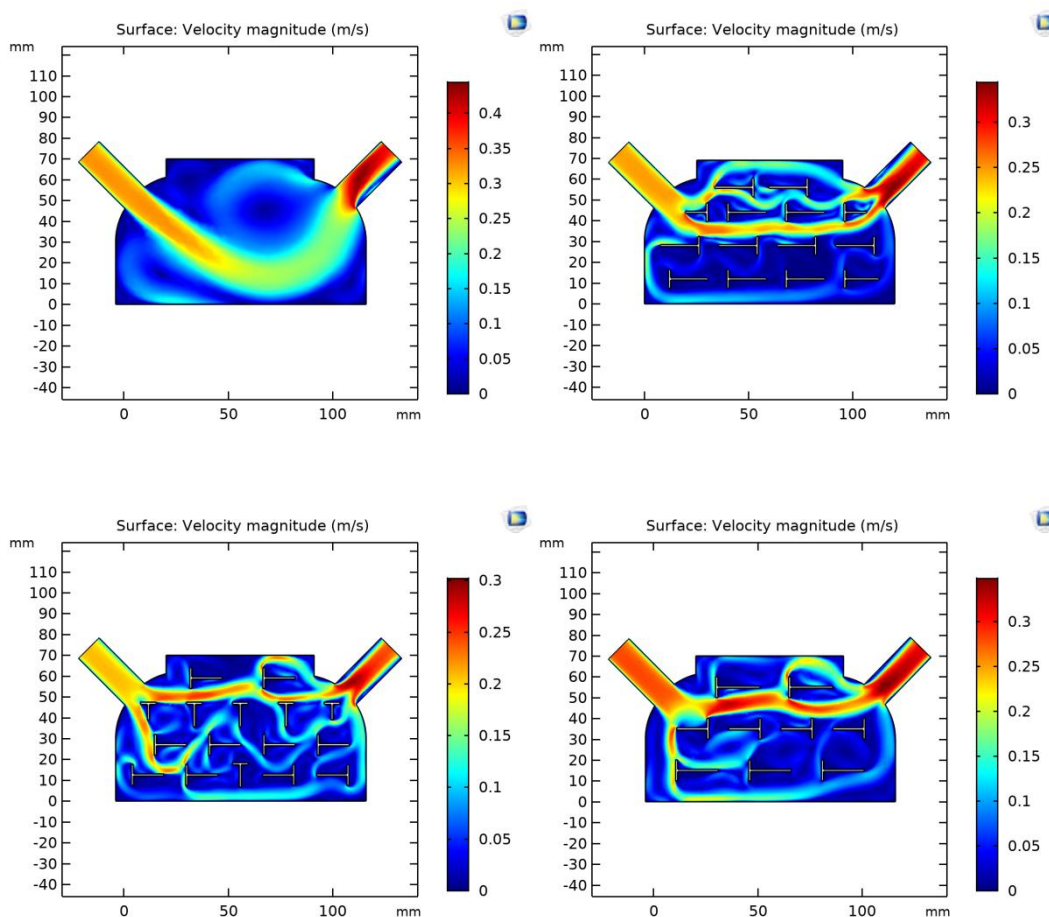
Rysunek V.7. Interakcja NCH a nerka, model 3D.

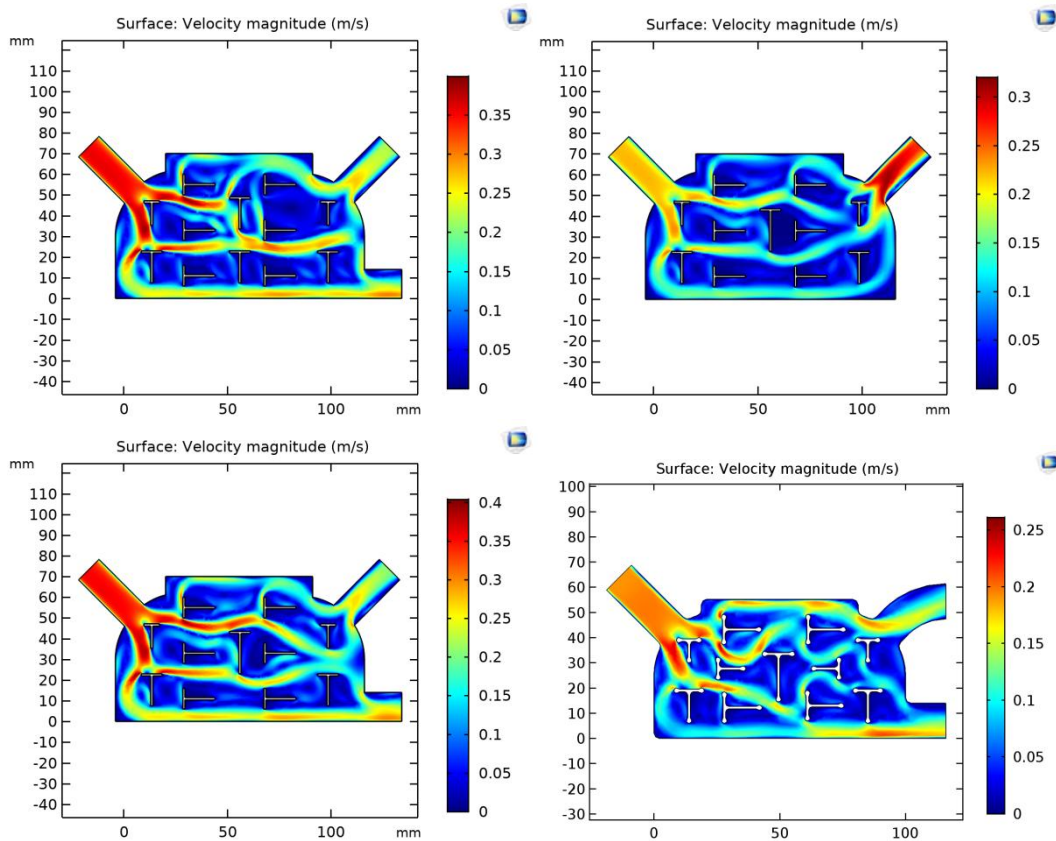
5.3. Wyniki i analiza.

Projektowanie kształtu NCHN. Pierwszy etap optymalizacji kształtu.

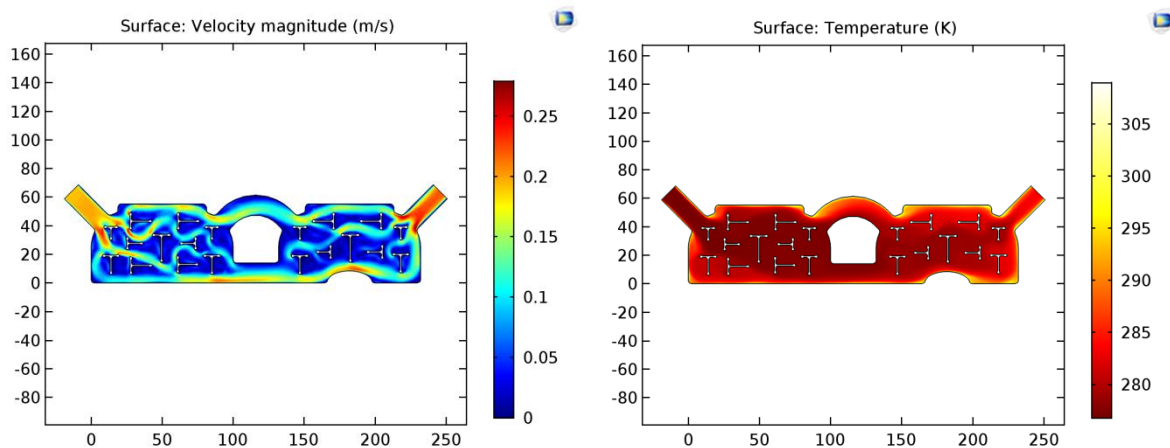
Proces projektowania nakładki został opisany w rozdziale III niniejszej rozprawy. W celu uzyskania finalnej konstrukcji nakładki sprawdzono graficznie (Rysunek V.8.) rozchodzenie się cieczy chłodzącej między kanałami nakładki. Nowe rozwiązania konstrukcyjne sprawdzano na części NCHN. Analizę rozpoczęto od zaprojektowania rozwiązania, które w swojej wewnętrznej konstrukcji nie posiada żadnych przegród rozbijających strumień wpływającej cieczy. Kolejno rozważono różne ułożenie zgrzewów w postaci litery "T". Symulacje numeryczne wykazały konieczność zaprojektowania w konstrukcji NCHN dodatkowego połączenia między dwoma częściami nakładki oraz pomogły rozlokować przegrody w nakładce. W propozycjach konstrukcji, które nie posiadały dwóch kanałów łączących dwie części nakładki zaobserwowano słaby przepływ cieczy w górnym obszarze NCHN. Brak przegród lub gęste ich ułożenie w nakładce nie zapewniło jednorodnego rozprowadzenia strumienia cieczy w każde miejsce w nakładce. Dodatkowo zauważono, że równoległe ułożenie liter T w nakładce powoduje zastoje cieczy chłodzącej w górnej części konstrukcji. W wyniku braku ruchu cieczy chłodzącej w tym obszarze zostałyby zatrzymana wymiana ciepła między NCH a nerką. Najbardziej optymalne rozchodzenie cieczy chłodzącej

odnotowano w konstrukcji, która posiada zgrzewy rozmieszczone względem siebie zarówno równoległe jak i prostopadłe. Z wykorzystaniem symulacji numerycznych określono minimalną odległość zgrzewów od krawędzi konstrukcji, która wynosi 6 mm. W wyniku badań ustalono także, że minimalna odległość między zgrzewami w postaci liter T powinna wynosić 4 mm. Finalnie, podstawowe symulacje numeryczne doprowadziły do zaprojektowania całości NCHN. Poniżej zaprezentowano opracowaną konstrukcję nakładki i rozkład wielkości prędkości wraz z rozkładem temperatury (Rysunek V.9).





Rysunek V.8. Symulacje numeryczne wykonane przed zaprojektowaniem finalnej wersji NCHN.



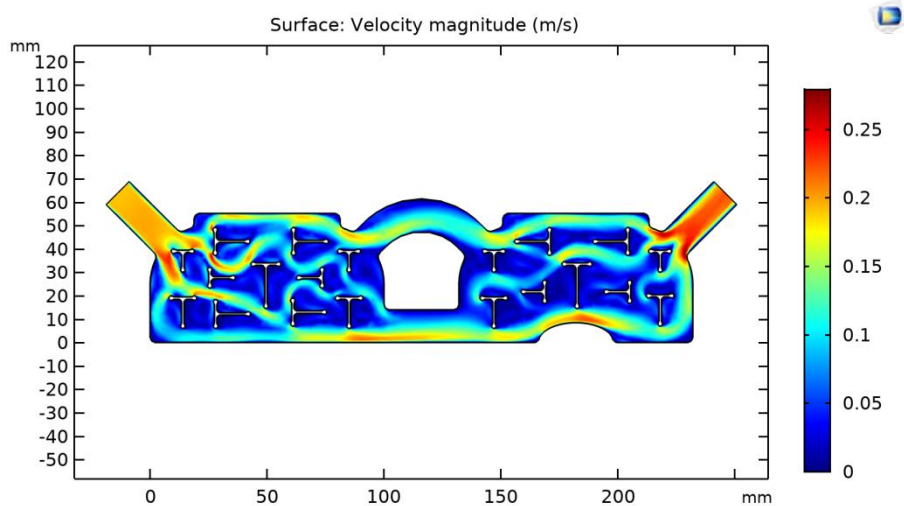
Rysunek V.9. Nakładka chłodząca w rozmiarze S, rozkład prędkości oraz rozkład temperatury.

Drugi etap optymalizacji NCHN.

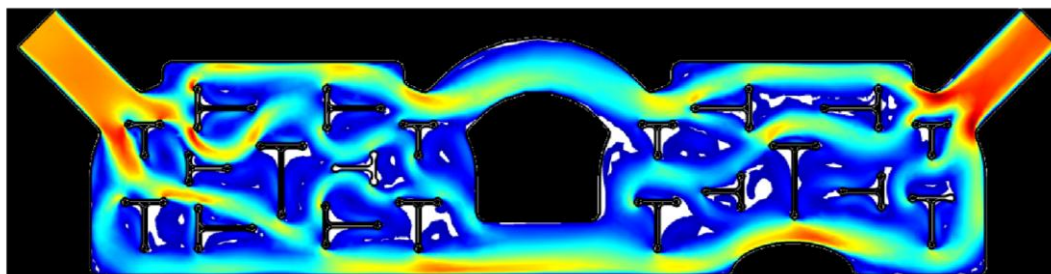
Drugi etap optymalizacji składał się z analizy martwych obszarów występujących w NCHN oraz oceny prędkości przepływu.

Symbolem \otimes oznaczono miejsca, w których usunięto litery "T". Sprawdzono, czy usunięcie zgrzewów w różnych miejscach konstrukcji pozytywnie wpłynie na rozchodzenie się cieczy chłodzącej w wnętrzu NCHN. Dodatkowo przeanalizowano, czy NCH bez wewnętrznych

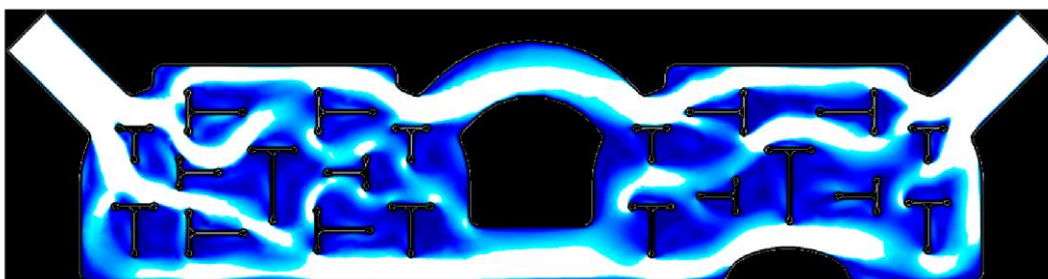
kanałów rozpraszających ciecz zachowa wydajne chłodzenie. Martwe obszary i obszary o wysokiej średniej prędkości na rysunkach poniżej oznaczono białą powierzchnią. Przyjęto, iż martwe obszary prędkości charakteryzujemy poniżej średniej prędkości równej 0,01 m/s, zaś obszary o wysokiej prędkości przepływu powyżej 0,1 m/s.



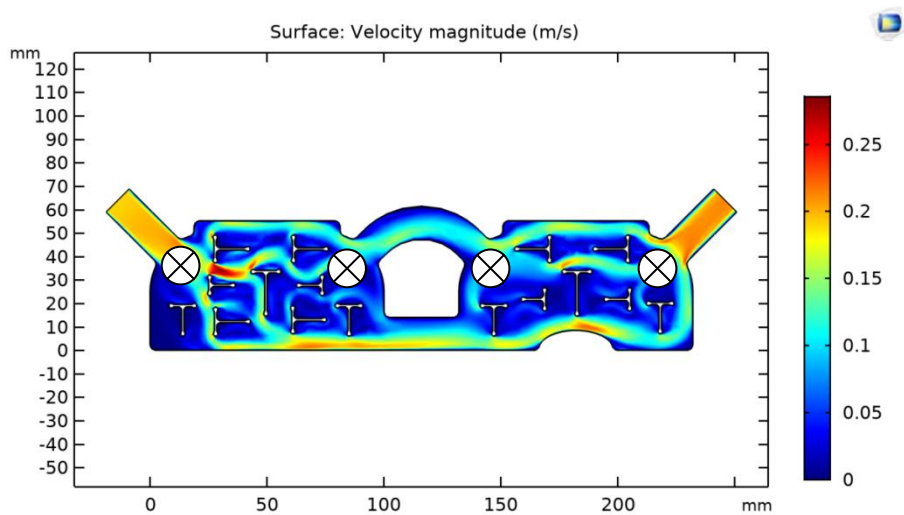
Rysunek V.10. NCH z całkowitym rozkładem zgrzewów w postaci liter "T". Oznaczenie S1.



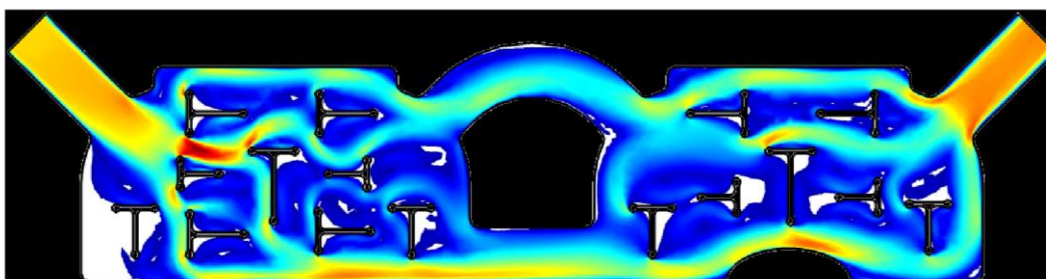
Rysunek V.11. Ocena martwych obszarów w NCH S1.



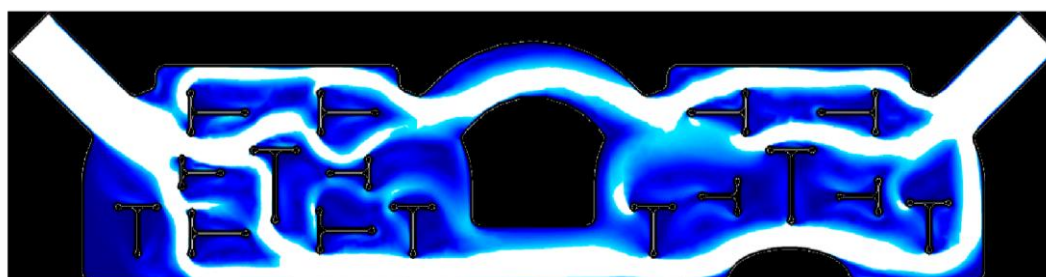
Rysunek V.12. Ocena prędkości przepływu w NCH S1.



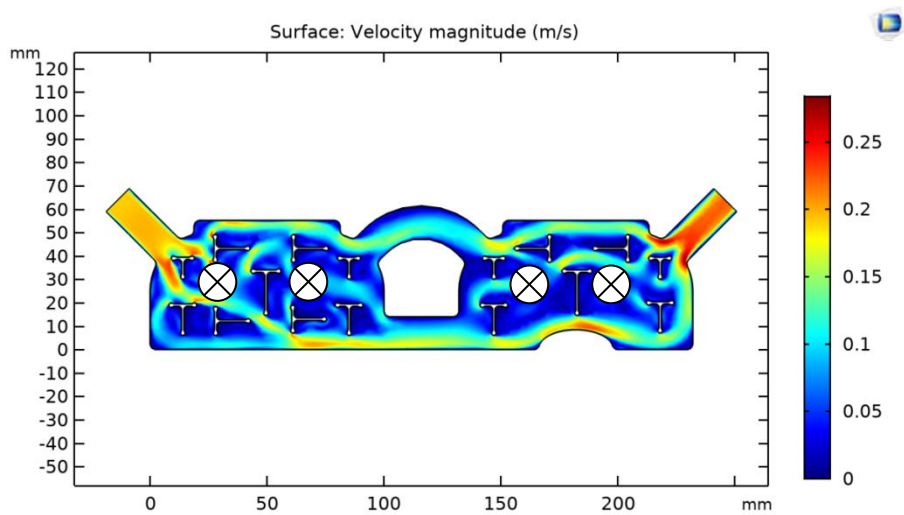
Rysunek V.13. NCH z usuniętymi 4 zgrzewami w postaci liter "T" na wpływie i wypływie cieczy z nakładki oraz na łączeniu między częściami nakładki. Oznaczenie S2.



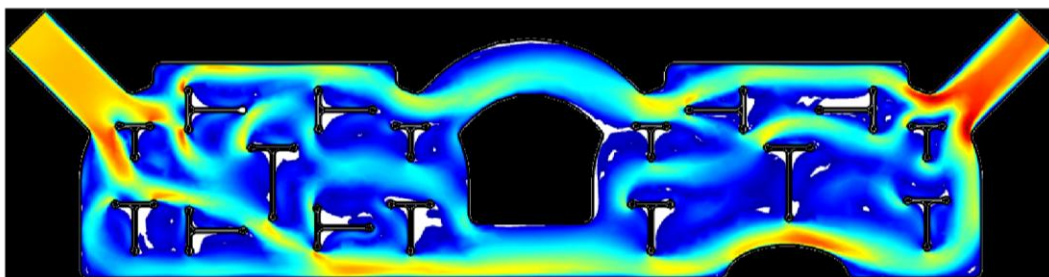
Rysunek V.14. Ocena martwych obszarów w NCH S2.



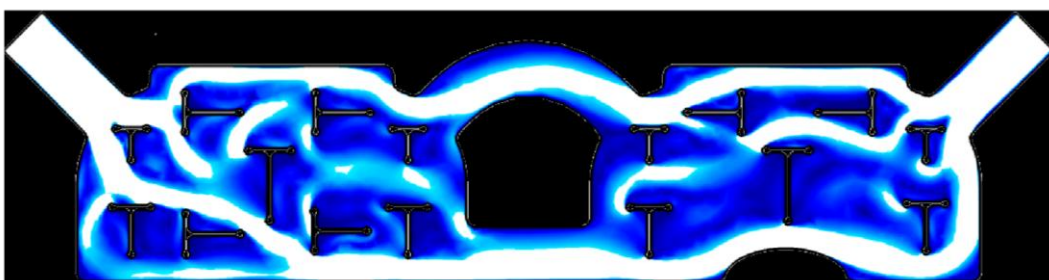
Rysunek V.15. Ocena prędkości przepływu w NCH S2.



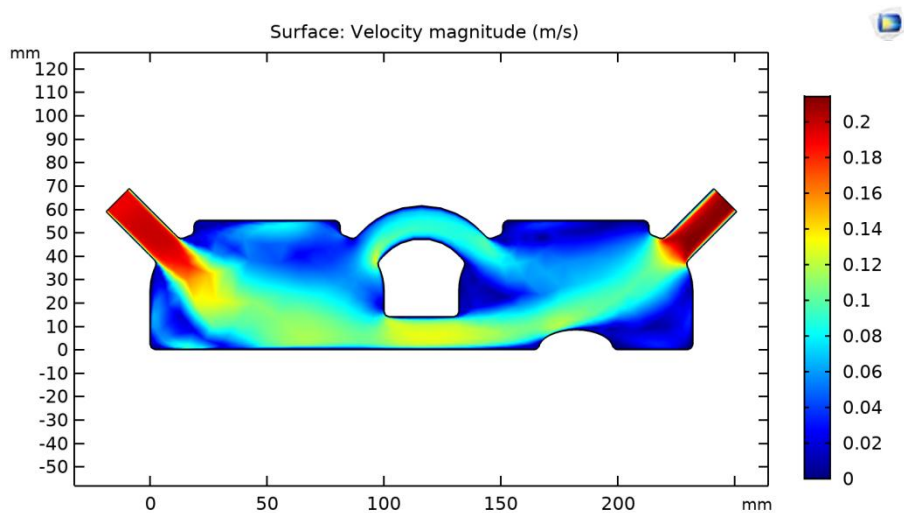
Rysunek V.16. NCH z usuniętymi 4 zgrzewami w postaci liter "T" we wnętrzu nakładki.
Oznaczenie S3.



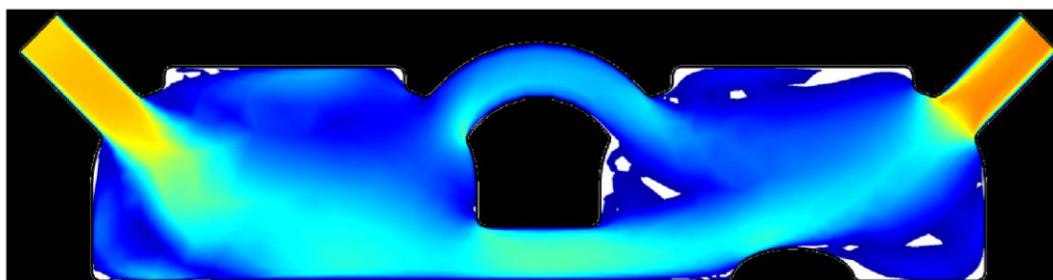
Rysunek V.17. Ocena martwych obszarów w NCH S3.



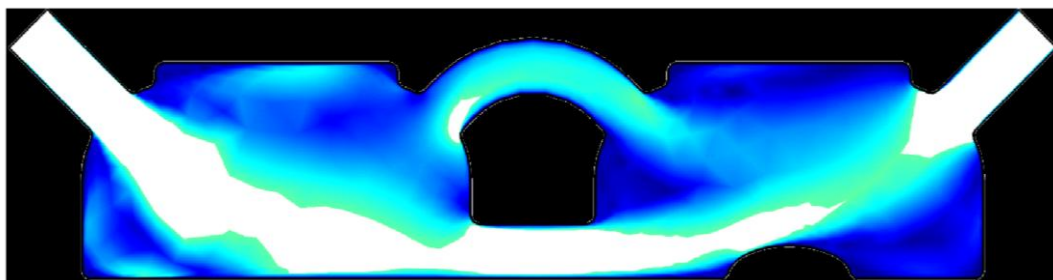
Rysunek V.18. Ocena prędkości przepływu w NCH S3.



Rysunek V.19. NCH bez zgrzewów w postaci liter "T". Oznaczenie S4.



Rysunek V.20. Ocena martwych obszarów w NCH S4.



Rysunek V.21. Ocena prędkości przepływu w NCH S4.

Tabela V.5. Zbiór wyników optymalizacji kształtu NCHN.

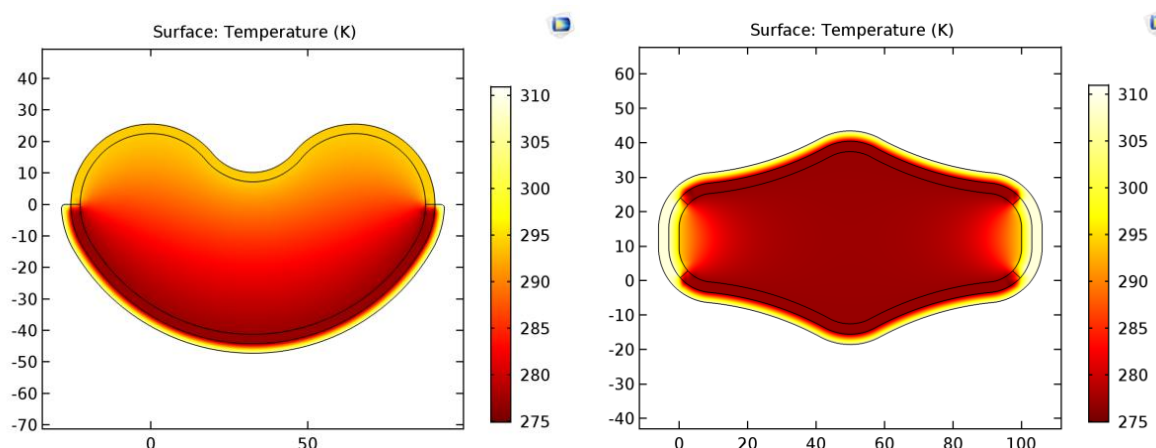
| Optymalizacja Analizowana NCH | Martwe obszary [%] | Prędkość przepływu powyżej 0,1 m/s [%] |
|----------------------------------|--------------------|---|
| S1 | 1,88 | 20,39 |
| S2 | 2,99 | 21,34 |
| S3 | 1,37 | 21,32 |
| S4 | 1,25 | 21,28 |

Z przeprowadzonej optymalizacji finalnego kształtu NCHN wynika, że najmniej martwych obszarów odnotowano w konstrukcji nakładki S4 tj. nakładka bez zgrzewów

wewnętrznych w postaci litery "T". Jednak w tym samym modelu zaobserwowano także procentowo najwięcej obszarów z średnią prędkością powyżej 0,1 m/s. Przepływ najbardziej jednolity wykazano w symulacji numerycznej S1, która zawiera całkowitą ilość zgrzewów "T". Mimo iż w symulacji S1 nie odnotowano najmniejszego procentowego udziału martwych obszarów to jest to rekomendowana konstrukcja do wdrożenia do produkcji. Przyjmujemy, iż najefektywniejsze chłodzenie narządu będzie realizowane, gdy przepływ w całej NCH będzie charakteryzował się najbardziej jednolitą prędkością. Tzn. średnia prędkość przepływu nie będzie powodować zastoju tzw. martwych obszarów w których wymiana ciepła jest zatrzymana, ani nie będzie wysoka, powodując zaburzenia w przepływie.

Interakcja między NCH a nerką. Przybliżony rozkład temperatury.

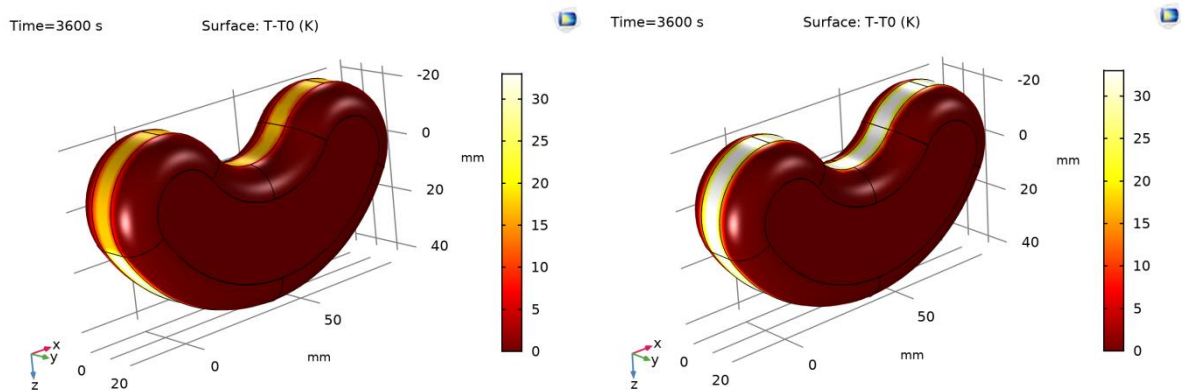
A. Przekrój poprzeczny i podłużny nerki. Model 2D



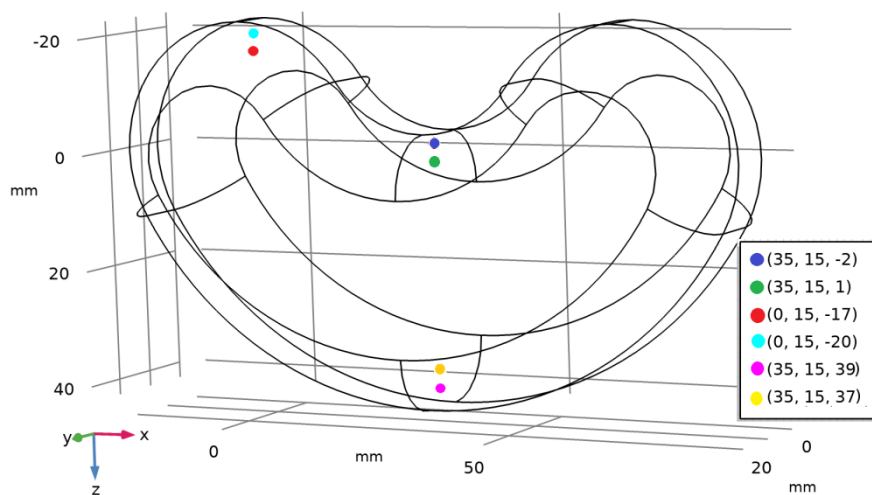
Rysunek V.22. Przybliżony rozkład temperatury nerki.

W przeprowadzonej symulacji interakcji między NCHH a narządem nerki określono przybliżony rozkład temperatury nerki. Symulacje wykazały, że NCH ma zdolność do utrzymania niskiej temperatury transplantu. Symulacje numeryczne pokazują miąższ nerki (przekrój nerki poprzeczny i podłużny) o temperaturze równej od 275 ÷ 285 K tj. od 2 ÷ 12 °C. Co stanowi wynik akceptowalny, aby zapobiec skutkom ciepłego niedokrwienia. Z przekroju nerki w widoku z boku zauważamy, że górne powierzchnie nerki są najmniej chłodzone. Jeśli z przyczyn technicznych nie jest możliwe umieszczenie cieczy chłodzącej w górnej części NCHN nerkę to zaleca się zamknięcie NCH materiałem izolacyjnym, na kształt pokrywki. Izolacja powstrzyma ogrzewanie narządu.

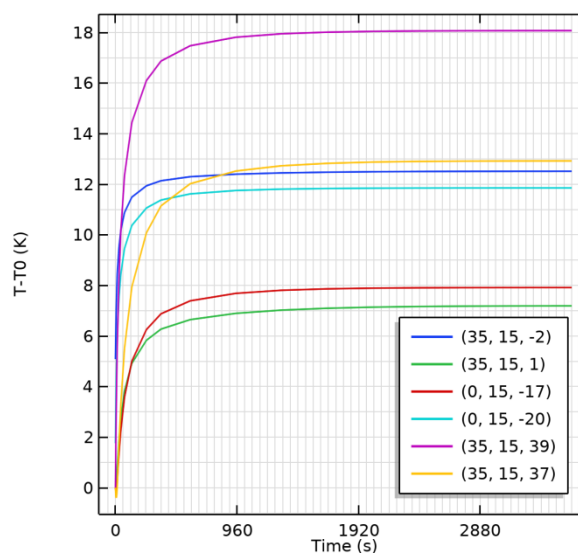
B. Model 3D nerki



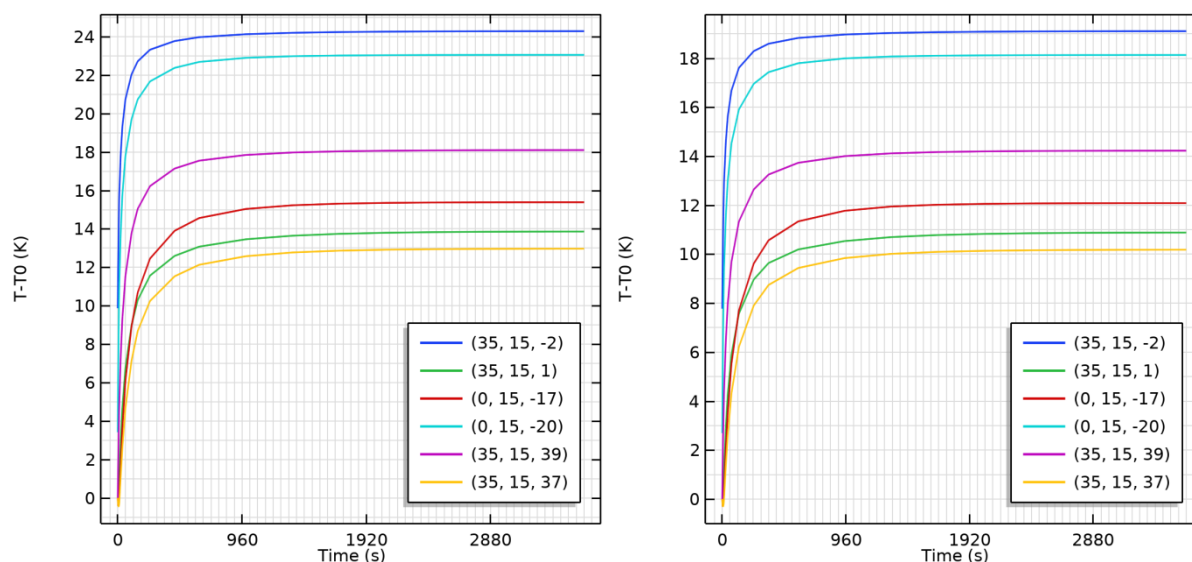
Rysunek V.23. Rozkład temperatury w nerce podczas CHO (lewa) oraz w CHR (prawa) grafika.



Rysunek V.24. Schematyczne oznaczenie 6 punktów pomiarowych rozkładu temperatury.



Wykres V.1. Rozkład temperatury nerki w 6 punktach pomiarowych w czasie 60 min w CHO. Warunek brzegowy na górnej powierzchni nerki równy T3, warunek brzegowy na dolnej powierzchni nerki równy T2, chłodzenie nerki T3.



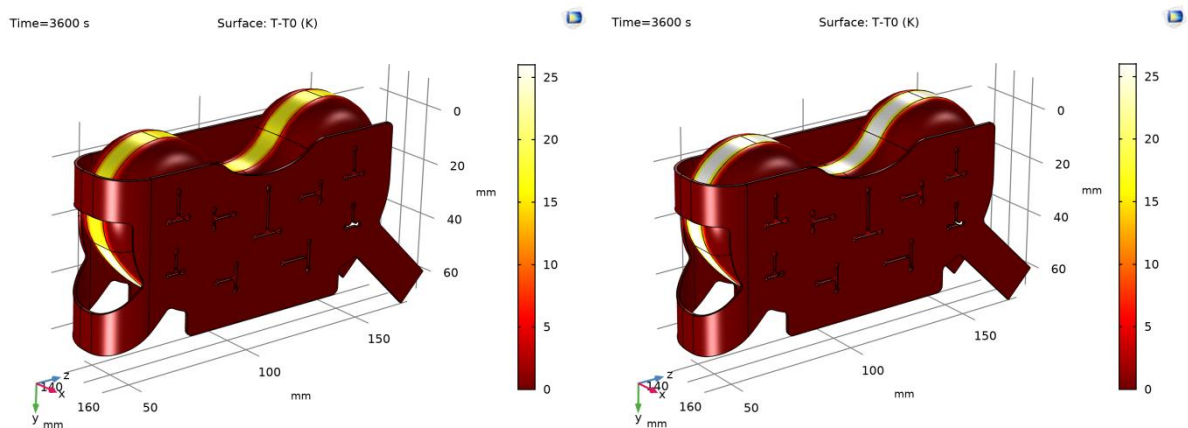
Wykres V.2. Rozkład temperatury nerki w 6 punktach pomiarowych w czasie 60 min w CHR. Warunek brzegowy na górnej powierzchni nerki równy T_2 , warunek brzegowy na dolnej powierzchni nerki równy T_2 , chłodzenie nerki T_3 . Wykres z lewej ilustrujący T_2 równe 36 °C, z prawej wykres ilustrujący T_2 równe 30 °C.

Z racji, że planowane jest wykorzystanie NCH w zabiegach chirurgii otwartej jak i robotycznej wykonano symulacje numeryczne imitujące warunki termiczne panujące w czasie operacji. W symulacjach CHO powierzchnie boczne nerki i jej wnętrze chłodzone są przez NCH. Zaś górna jej powierzchnia okryta jest warstwą izolacyjną, która ma kontakt z powietrzem panującym na sali operacyjnej. Dolne powierzchnie nerki otulone są materiałem izolacyjnym w postaci NCHN i mają kontakt z ciałem i krwią pacjenta. Warunki termiczne dla operacji robotycznej są inne. NCHN umieszczana jest w całości w jamie ciała. Boczne powierzchnie nerki i jej wnętrze chłodzone są NCH, zaś z dołu i z góry nerka posiada termiczną izolację od krwi w postaci polimerowych ścianek NCH. Z przeprowadzonej symulacji MES dla CHO odnotowano w czasie 60 min maksymalny wzrost temperatury do wartości 18 °C. Punkt pomiarowy umieszczony w miejscu naczyń krwionośnych oznaczony niebieską, zieloną kropką wskazują na osiągnięcie od $6-12$ °C podczas godzinowego zabiegu transplantacji. Całościowo rozkład temperatury w nerce nie przekracza poziomu 20 °C. W przygotowanych symulacjach dla chirurgii robotycznej (CHR) brano pod uwagę dwa rozwiązania. Jedna z symulacji przedstawia brak izolacji dolnej i górnej części nerki, rozumiemy to jako brak osłonięcia materiałem izolacyjnym narządu umieszczonego w jamie ciała. Druga symulacja uwzględnia izolację termiczną nerki. W przypadku w którym nerka nie jest izolowana materiałem NCH punkt pomiarowy w obszarze naczyń krwionośnych osiąga aż 24 °C. Wartość temperatury powyżej 20 °C nie jest bezpieczna i może spowodować

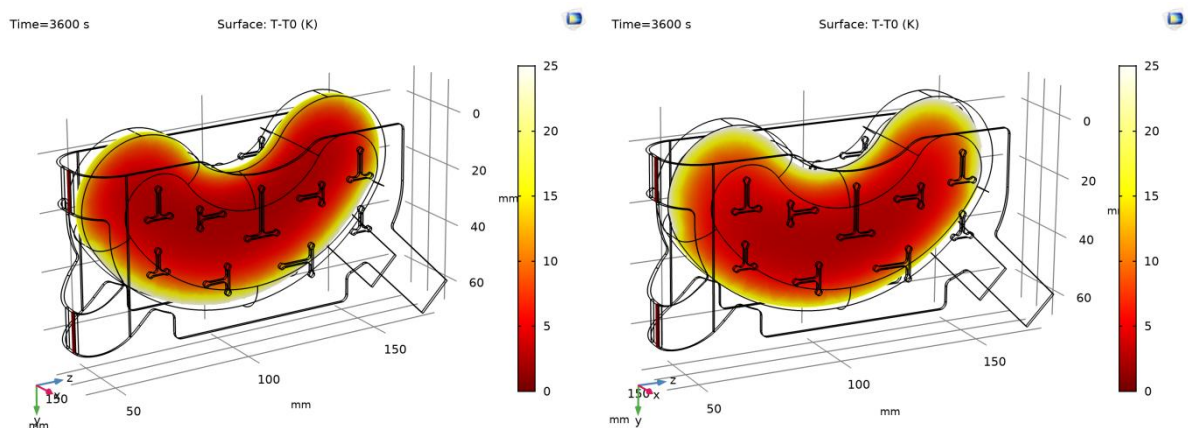
trwałe uszkodzenia narządu. Najniższa temperatura w nerce po 60 min zabiegu operacji wynosi 12 °C. Rozkład temperatury w nerce, która chłodzona jest NCH oraz posiada izolację termiczną od struktur tkankowych i krwi jest korzystniejszy do uniknięcia skutków niedokrwienia. Odnotowujemy maksymalną temperaturę nerki po 60 min zabiegu w rejonie naczyń krwionośnych na poziomie 18 °C. Izolacja termiczna pozwala obniżyć temperaturę nerki o 6°C. Najniższa odnotowana temperatura oscyluje wokół 10 °C. Przedstawione symulacje pokazują w przybliżony sposób konieczność stosowania izolacji termicznej w miejscach styku tkanek z nakładką chłodzącą gdzie nie ma chłodzenia. Przy założeniu spełnienia zadanych warunków termicznych NCHN może utrzymać nerkę w reżimie temperaturowym do 18 °C w czasie godzinnego zabiegu transplantacji.

C. Model 3D nerki z NCH

Do programu COMSOL Multiphysics zaimportowano przestrzenny model NCH oraz nerki. Wykonano analogiczne symulacje termiczne dla warunków operacji CHO i CHR. Wyniki graficzne symulacji przedstawiono poniżej.



Rysunek V.25. Symulacja 3D interakcji NCH z nerką dla CHO (lewa) oraz CHR (prawa) grafika.



Rysunek V.26. Symulacja 3D interakcji NCH z nerką dla CHO (lewa) oraz CHR (prawa) grafika w przekroju płaszczyzny YZ.

Zaimportowane przestrzenne modele NCH nie posiadają izolacji termicznej w bocznych ściankach NCH jak i pokrywy, izolacji górnej powierzchni nerki (Rysunek V.25). Przekroje nerki w płaszczyźnie YZ ilustrują konieczność wprowadzenia izolacji termicznej. Zarówno w CHO jak i CHR temperatura powierzchni nerki nie przekracza 20 °C.

5.4. Wnioski.

Podczas badań numerycznych przeanalizowano szereg rozwiązań konstrukcyjnych mających na celu uzyskanie takiego rozkładu zgrzewów w postaci liter T, aby uzyskać przepływ laminarny wewnątrz NCH. Z wykorzystaniem prostej optymalizacji konstrukcji zwrócono szczególną uwagę na występowanie martwych obszarów przepływu w nakładce jak i obszarów w których średnia prędkość cieczy chłodzącej jest wysoka. Finalna konstrukcja NCH charakteryzuje się naprzemiennie ułożonymi zgrzewami T, minimalną odległością między zgrzewami a krawędzią nakładki równą 6 mm, ułożeniem zgrzewów względem siebie w odległości co najmniej 4 mm, dwoma kanałami łączącymi dwie części NCHN. Naprzemiennie ułożone litery T są względem siebie prostopadle jak i równolegle. Symulacje numeryczne potwierdziły zdolność NCH do utrzymania niskiej temperatury nerki. Dzięki, wynikom symulacji interakcji między NCH a nerką zdecydowano o zaprojektowaniu pokrywy nakładki chłodzącej, która osłoni górną powierzchnię nerki i będzie stanowić izolację termiczną. Izolację termiczną zastosowano także w dolnej części NCH.

Przeprowadzone symulacje, prosta optymalizacja ułożenia kanałów rozbijających strumień cieczy wewnątrz nakładki, symulacje interakcji między nakładką a nerką doprowadziły do zaprojektowania trzech finalnych rozmiarów NCHN.

Przeprowadzone symulacje, prosta optymalizacja ułożenia kanałów rozbijających strumień cieczy wewnątrz nakładki, a następnie symulacje interakcji termicznych między nakładką a nerką doprowadziły do zaprojektowania trzech finalnych kształtów konstrukcji NCHN w trzech rozmiarach.

ROZDZIAŁ VI

VI. Ultradźwiękowa weryfikacja doświadczalna modelu numerycznego przepływu wewnątrz ścian NCHN

Opisana w tym rozdziale doświadczalna weryfikacja projektowania opracowanego urządzenia chłodzącego została zamieszczona w dokumentacji projektowej wyrobu. Proces weryfikacji wykonano zgodnie z normą [ISO 13485].

Modelowanie MES i pomiary ultradźwiękowe pola przepływu. **Weryfikacja ultradźwiękowa modelowania numerycznego.**

6.1. Zasada działania ultradźwiękowego przepływomierza Dopplerowskiego.

Ultradźwięki służą jako nieinwazyjna technika pomiarowa umożliwiająca opisanie charakteru przepływu cieczy wewnątrz rur/naczyń, jeśli przepływająca ciecz zawiera rozpraszacze ultradźwięku. W szczególności taką cieczą jest krew i przepływomierze ultradźwiękowe są powszechnie wykorzystywane w diagnostyce medycznej chorób układu krążenia [Nowicki 2016]. W oparciu o różne zasady wykrywania ultradźwiękowe przepływomierze dzieli się na trzy typy: miernik czasu przejścia, miernik korelacji krzyżowej i miernik Dopplera [Chao 2021]. Miernik czasu przejścia (lub tranzytowy) wykorzystuje informacje o średniej liniowej prędkości wzdłuż ścieżki ultradźwiękowej do oszacowania prędkości płynu. W takim pomiarze wykorzystuje się dwa czujniki zainstalowane naprzeciw siebie A przed i B za rurą w określonej odległości od siebie, które naprzemiennie pełnią funkcję nadajnika i odbiornika. Gdy przetwornik A emituje impuls ultradźwiękowy do płynu, fala przemieszcza się wzdłuż kierunku przepływu i zostanie odebrana przez przetwornik B po czasie $t_{A \rightarrow B}$. Czas ten jest spowodowany prędkością ultradźwięków w płynie (jako stała w ustalonej temperaturze) plus prędkość płynu. Następnie przetwornik B emituje impuls ultradźwiękowy, który zostanie odebrany przez przetwornik A po czasie $t_{B \rightarrow A}$. Czas ten jest spowodowany prędkością ultradźwięków minus prędkość płynu. Różnice między tymi dwoma czasami transmisji, tj. do zniesienia prędkości ultradźwięków, są proporcjonalne do osiowej prędkości przepływu płynu. Ultradźwiękowy miernik korelacji krzyżowej wykorzystuje cztery przetworniki, umieszczone z dwu stron rury naprzeciwko siebie na kierunku prostopadłym do ścian rury w znanej odległości od siebie. Idea miernika oparta jest na teorii korelacji i procesie stochastycznym. Szacuje prędkość płynu mierząc czas przejścia szumu przepływu od czujnika górnego do czujnika dolnego. Bazując na hipotezie,

że odbierane sygnały mają podobny kształt, ale z opóźnieniem czasowym, które można wyznaczyć obliczając funkcję korelacji krzyżowej tych dwóch sygnałów. Ultradźwiękowy miernik Dopplera zgodnie z trybami pracy przetwornika obejmuje dwie metody: metodę Dopplera ultradźwiękowego fali ciągłej (CWUD – ang. Continuous wave ultrasound doppler) oraz metodę Dopplera ultradźwiękowego fali impulsowej (PWUD – ang. Pulse wave ultrasound) pomiędzy nadajnikiem a odbiornikiem dźwięku jest proporcjonalne do prędkości względnej, tj. efektu Dopplera. W przypadku metody CWUD częstotliwość dopplerowska f_d jest wynikiem wielokrotnych odbić od wielu rozpraszaczy w stałej objętości wykrywania.

$$f_d = \int_{-\infty}^{+\infty} Sd(f_d)df \quad (1),$$

gdzie: $Sd(f_d)$ jest gęstością widma mocy Dopplera, f_d jest składową częstotliwości. W połączeniu z modelami fizycznymi, które opisują zależność między prędkością Dopplera w obrębie objętości pomiarowej, a ogólną prędkością powierzchniową można uzyskać natężenie przepływu [Tan 2016]. W odróżnieniu od metody CWUD, metoda PWUD, prowadzi do zbierania danych z „bramkowanego” zasięgu. Dzięki temu uzyskuje się profile prędkości chwilowej przepływu. Informacje o położeniu bramki uzyskuje się z pomiaru czasu przelotu echa, a przesunięcie częstotliwości Dopplera jest zwykle wyodrębniane przez analizę widma wielu ech (zwykle 25–27), w każdym kanale pomiarowym. Natężenie przepływu jest ostatecznie uzyskiwane przez całkowanie powierzchni profilu prędkości. Miernik Dopplera wymaga cząsteczek znaczników do rozpraszania ultradźwięków i powodowania zmiany częstotliwości. W badaniach wykorzystano zawiesinę cząsteczek krochmalu w wodzie. W przypadku metody PWUD natężenie przepływu uzyskuje się przez dyskretne numeryczne całkowanie profilu prędkości chwilowej w oparciu o założenie, że prędkość płynu na tej samej odległości od ściany ograniczającej przepływ jest taka sama. Wystarczy jeden przetwornik, aby wykonać pomiar natężenia równomiernego, symetrycznego przepływu, ale wtedy gdy przepływ odbywa się w bardziej nierównomiernej przestrzeni z przeszkodami na swojej drodze potrzeba wielu przetworników dla pomiarów niesymetrycznego przepływu, tak, aby uzyskać wysoką dokładność pomiaru.

6.2. Materiał i metoda badawcza weryfikacji predykcji pola przepływu wykonanego w MES metodą pomiarów Dopplerowskich.

Natężenia przepływu wewnątrz NCHN mierzono za pomocą ultradźwiękowego przepływomierza impulsowego Dopplera, wykonanego w IPPT PAN, pierwotnie

dedykowanego pomiarom przepływu w naczyniach krwionośnych, [Nowicki2016, Nowicki2018, Nowicki 2019]. Efekt Dopplera powoduje, że fala akustyczna rozproszona na poruszających się cząstkach w zawieszynie ma inną częstotliwość niż fala przepuszczana. Różnica częstotliwości nazywana jest przesunięciem Dopplera lub częstotliwością Dopplera i jest równa:

$$f_d = 2f_n \frac{v}{c} \cos \theta \quad (2),$$

gdzie f_d - oznacza częstotliwość Dopplera, f_n - częstotliwość przepuszczanej fali, v - prędkość poruszających się cząstek, c - prędkość fali w ośrodku, θ - kąt między kierunkiem odpowiednio przepływu cząstek i kierunkiem propagacji fali akustycznej. Ponieważ cząstki poruszają się z różnymi prędkościami sygnał Dopplera ma widmo częstotliwości, które odpowiada ilościowemu rozkładowi prędkości zawieszonych cząstek. Efekt Dopplera umożliwia rejestrację fal rozproszonych na ruchomych elementach i ich oddzielenie od struktur stacjonarnych dla których częstotliwość echa jest równa częstotliwości nadawanej. Nad przepływającą cieczą umieszczono przetwornik ultradźwiękowy, który naprzemiennie przekazuje i odbiera falę ultradźwiękową. Odebrany sygnał jest rejestrowany po włączeniu bramki odbiornika. Stałe opóźnienie bramki powoduje, że sygnał rozproszony na cząsteczkach poruszających się na pewnej głębokości w małej przestrzeni zwanej objętością próbki ma być rejestrowany. Ma kształt walca, którego średnica odpowiada szerokości wiązki ultradźwiękowej, a grubość czasowi trwania zastawki w odbiorniku przepływomierza. Zależność między głębokością bramki Δz a opóźnieniem Δt będącą czasem między początkiem impulsu nadawczego a czasem załączenia bramki, wyraża wzór:

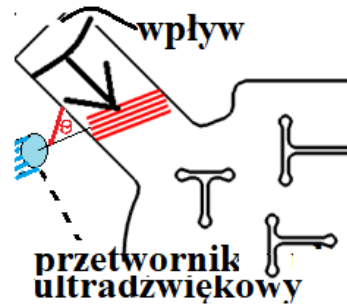
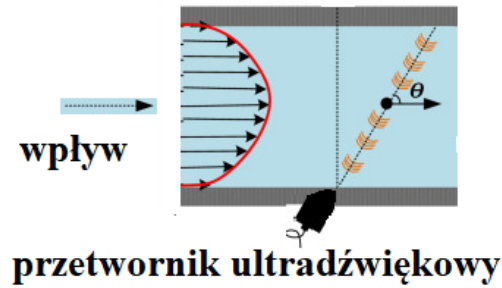
$$\Delta z = \Delta t \cdot c \quad (3),$$

Prędkość przepływu v jest równa:

$$v = \frac{cf_d}{2f_n \cos \theta} \quad (4).$$

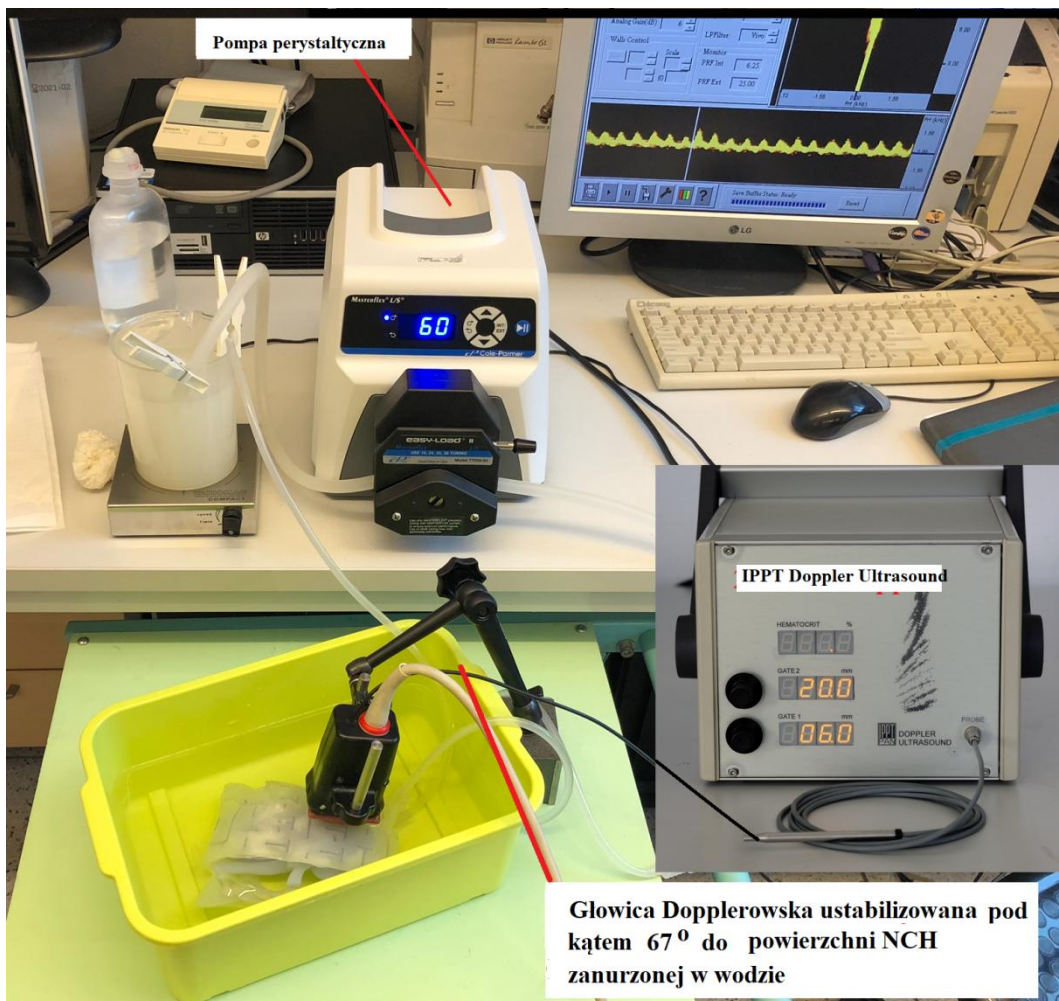
Małe zmiany kąta θ powodują ogromną zmianę obliczonej prędkości. Kluczowe dla zmierzonej prędkości jest dokładne określenie kąta θ . Oznacza to, że ważne jest kontrolowanie kierunku przepływu w odniesieniu do kierunku osi wiązki ultradźwiękowej. Kąt θ wynoszący 10° zmienił wartość prędkości o 50 %. Błędy w kątach większych niż 20° powodują zmiany prędkości większe niż 200 %.

Rysunek VI.1 przedstawia ułożenie głowicy w stosunku do przepływu w idealnej rurze kołowej i w pobliżu punktu wpływu do NCHN.



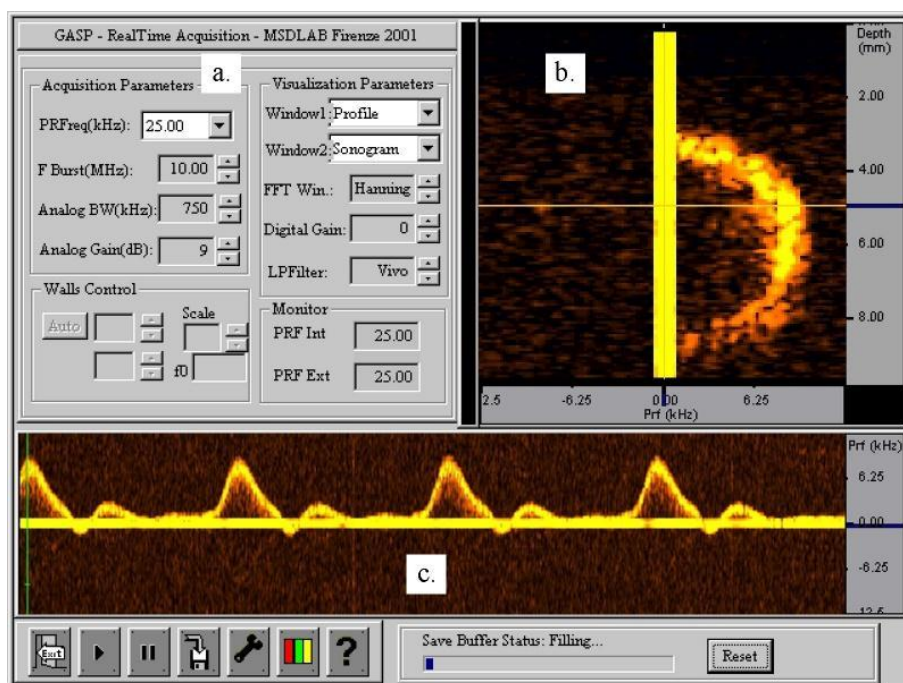
Rysunek VI.1. Pomiar przepływu z zaznaczeniem kąta θ w rurze oraz konfiguracja geometryczna pomiaru w NCHN.

Pomiary wykonano za pomocą dopplerowskiego miernika impulsów pracującego na częstotliwości ultradźwiękowej 20 MHz, opracowanego w Zakładzie Ultradźwięków IPPT PAN, pokazanego na Rysunek VI.2.



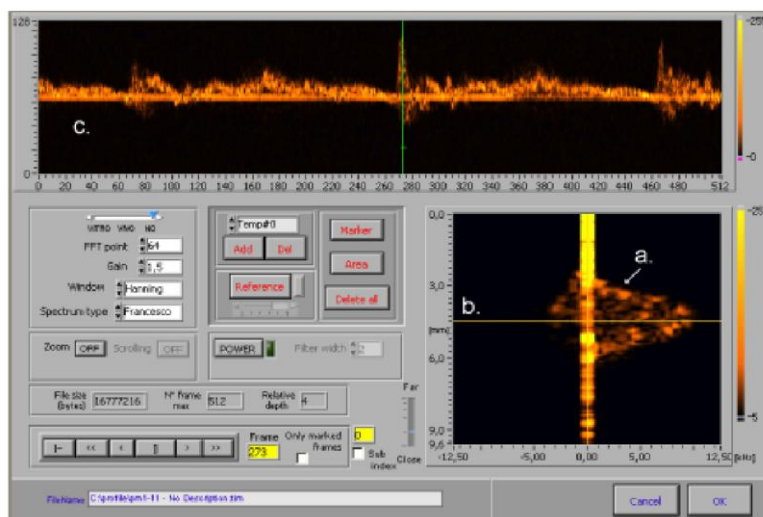
Rysunek VI.2. Układ pomiarowy z wykorzystaniem ultradźwiękowego przepływomierza Dopplerowskiego.

Miernik jest podłączony do płytki pomiarowej w komputerze PC. Sygnał Dopplera jest rejestrowany i przechowywany w 128 kanałach. Dane o prędkości przepływu cieczy rejestrowane są w 128 warstwach oddzielonych od siebie o 0,075 mm, co pozwala określić profil przepływu w odległości 0 – 9,6 mm od przetwornika. Oprogramowanie karty akwizycji zostało przygotowane w [Bambi 2014]. Oprogramowanie umożliwia zarówno rejestrację profilu prędkości przepływu, jak i wyznaczenie prędkości średniej, uśrednionej zarówno w czasie, jak i na głębokości. Obraz na ekranie monitora podczas rejestracji sygnału przepływu pokazano na Rysunek VI.3.



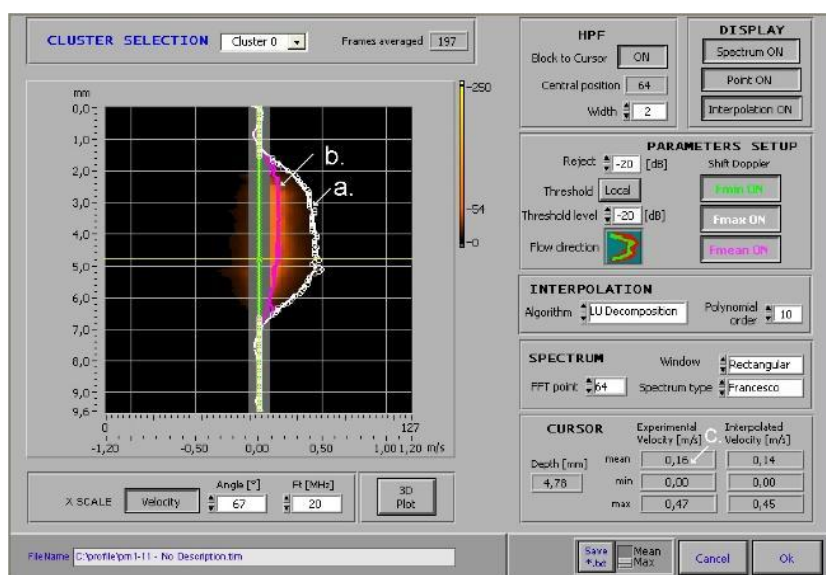
Rysunek VI.3. Obraz na ekranie monitora podczas rejestracji sygnału Dopplera. a. Pole do ustawienia parametrów akwizycji: częstotliwość powtarzania fPRF, częstotliwość próbkowania fs, przepustowość i współczynnik wzmocnienia. b. Profil przepływu skonstruowany ze 128 widm FFT sygnału Dopplera; linia pozioma oznacza pozycję bramki, z której widmo jest wyświetlane w polu c. c. Widmo częstotliwości sygnału Dopplera w funkcji czasu.

Zarejestrowany profil przepływu i obliczona średnia prędkość przepływu przedstawiono na Rysunek VI.4.



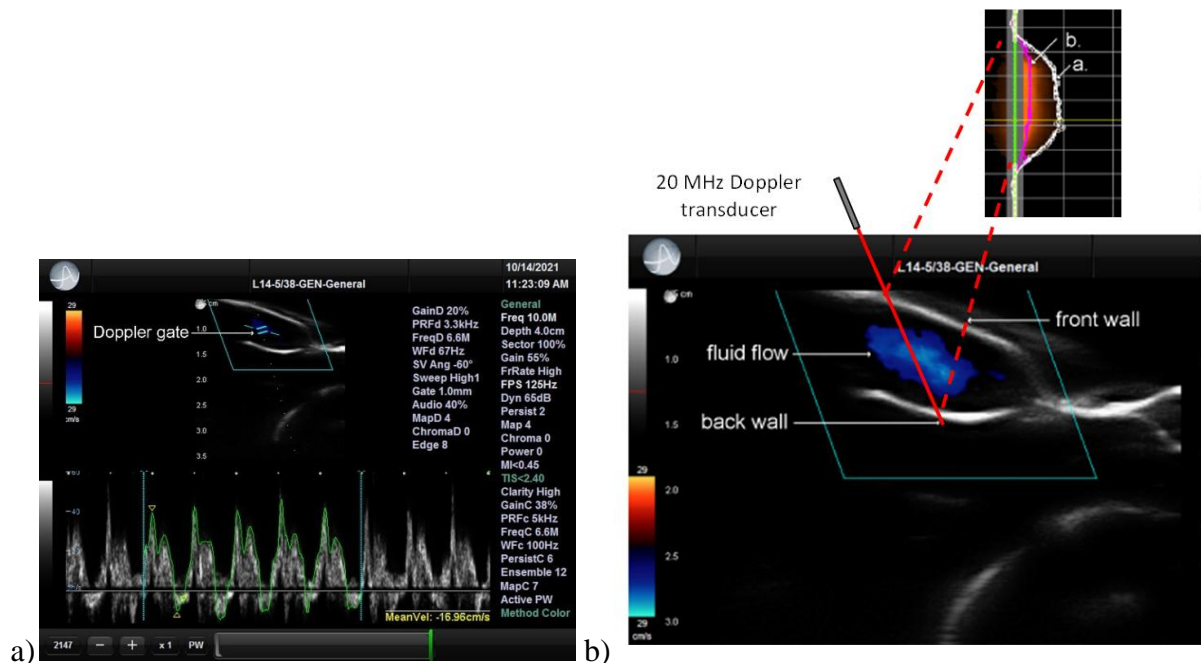
Rysunek VI.4. Zarejestrowane widma Dopplera w 128 bramkach. a. Profil przepływu chwilowego zbudowany ze 128 widm FFT sygnału Dopplera. b. Pozycja bramki (4,5 mm), z której wyświetlane jest widmo w polu c. c. Widmo częstotliwości sygnału Dopplera w funkcji czasu.

Pomiary prędkości przepływu płynu zweryfikowano medycznym ultrasonografem UltrasonixSonixTouch. Zastosowano głowicę liniową L14-5/38 pracującą z częstotliwością 10 MHz (obrazowanie) i 6,6 MHz (doppler barwny i widmowy). Zarejestrowano obraz B, przedstawiający przednią i tylną ściankę NCHN oraz przepływ kolorowego Dopplera między ścianami rysunek VI.5.



Rysunek VI.5. Obraz na ekranie monitora podczas obliczania profilu przepływu. a. Profil szczytowej prędkości przepływu skonstruowany na podstawie 128 widm FFT sygnału Dopplera. b. Średni profil prędkości przepływu uśredniony w czasie i częstotliwości. c. Średnia prędkość uśredniona w całym naczyniu i obliczona ze wzoru (1) przy założeniu częstotliwości $f = 20$ MHz i kąta $\theta = 67^\circ$ oraz obliczonej średniej prędkości $\vartheta = 0,16$ m/s.

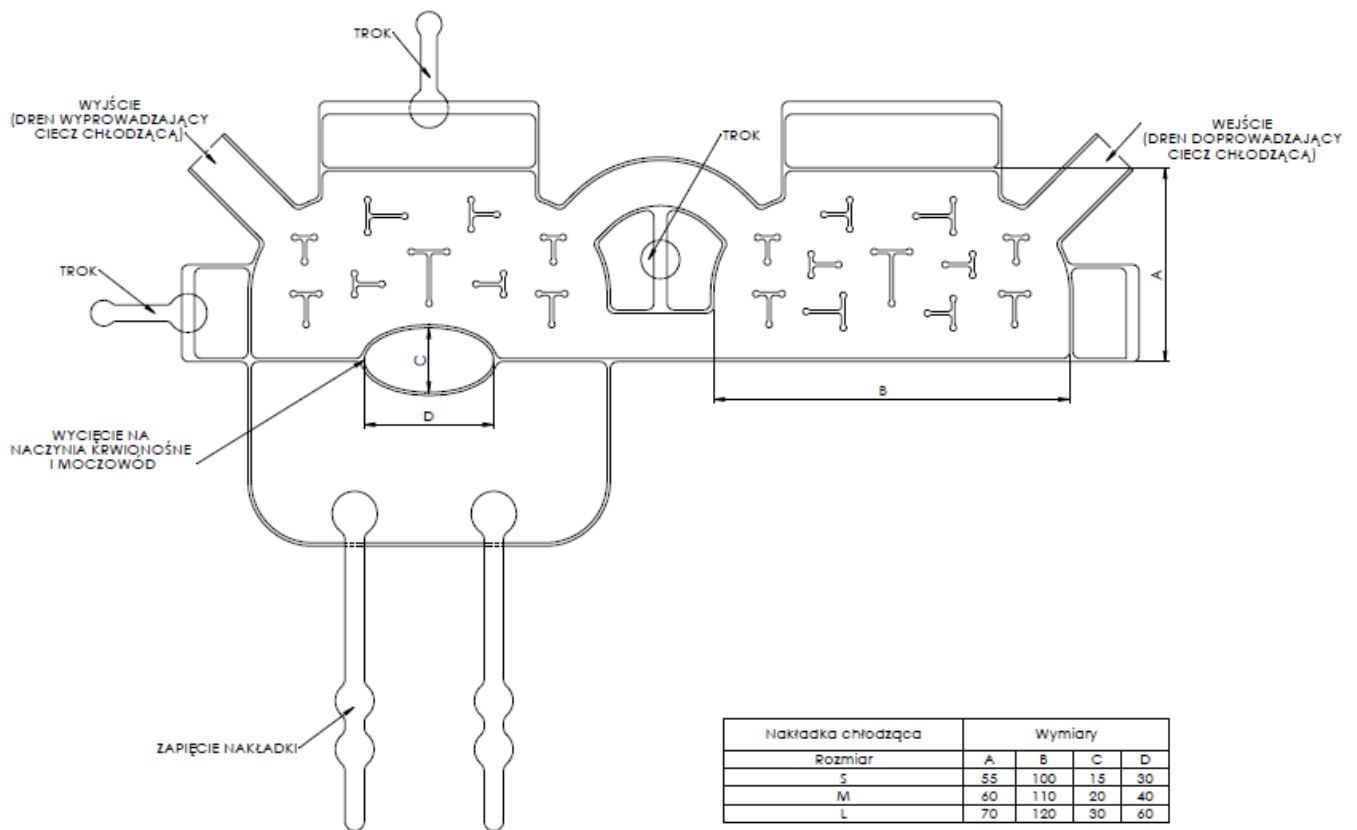
Sygnal Dopplera został również zarejestrowany w bramce umieszczonej w połowie odległości między ściankami NCHN na Rysunek VI.6, w pobliżu punktu pomiarowego nr 1. Zmierzona średnia prędkość przepływu odpowiadała wartości zmierzonej wielobramkowym Dopplerem. Potwierdziło to wiarygodność pomiarów przepływu dokonanych w innych punktach NCHN, których porównanie z modelem numerycznych stanowiło weryfikację wiarygodności modelowania.



Rysunek VI.6. Ultradźwiękowy obraz NCHN w trybie B i mapa przepływu w kolorowym Dopplerze w pobliżu wpływu, na lewo. Kierunek fali ultradźwiękowej zaznaczony czerwoną linią. Kąt pomiędzy kierunkiem wiązki i kierunkiem przepływu 60° , na prawo na dole. a) Profil przepływu szczytowej prędkości skonstruowany ze 128 widm FFT (Fast Fourier Transform, szybka transformata Fouriera) sygnału Dopplera i b) profil przepływu średniej prędkości uśredniony w czasie i częstotliwościach z całego widma. Średnia prędkość około 16 cm/s.

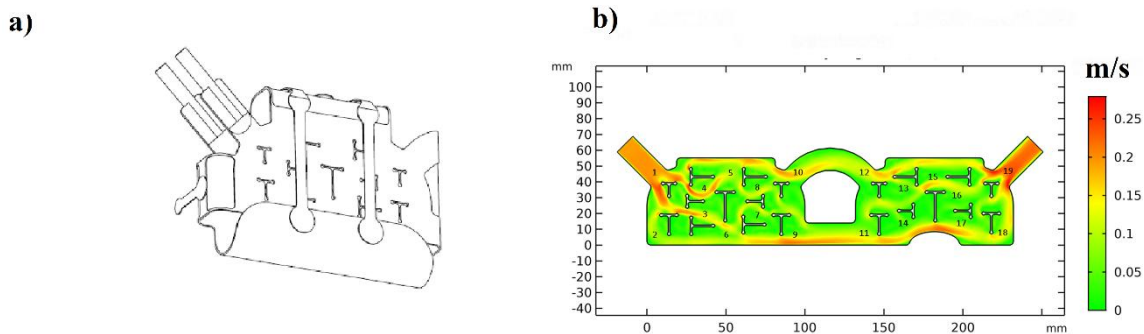
Zastosowanie Dopplera wielobramkowego pozwoliło na zwiększenie dokładności pomiarów prędkości przepływu. Moc sygnału rozproszonego na cząstkach zawiesiny jest proporcjonalna do czwartej potęgi częstotliwości. Wraz ze wzrostem częstotliwości ultradźwiękowej z 6,6 MHz (Ultrasonix) do 20 MHz (Doppler wielobramkowy), moc sygnału Dopplera wzrasta 81 razy lub 19 dB. Zwiększa to stosunek sygnału do szumu o podobną wartość. Drugim czynnikiem zwiększającym dokładność był pomiar wielobramkowy uwzględniający rzeczywisty kształt przestrzeni przepływu i profil przepływu cieczy. Zaproponowana geometria modelu numerycznego przestrzeni przepływu to geometria dwuwymiarowa, 2D, zdefiniowana jest jako przekrój przestrzeni ograniczonej przez powierzchnie ścian zewnętrznych i ścian wewnętrznych (zgrzewów ścianek zewnętrznych w kształcie liter T), która jest bezpośrednim odwzorowaniem wymiarów 3 wyprodukowanych prototypów,

mianowicie rozmiaru, S – mały, M – średni i L – duży. Na Rysunek VI.7 przedstawiono geometrię rzutów trzy wymiarowej struktury NCHN na płaszczyznę przekroju wraz z wymiarami technicznymi zastosowanymi w modelu numerycznym.



Rysunek VI.7. Rysunek techniczny 2D kształtu nakładek, który był użyty do zbudowania geometrii 2D w programie COMSOL.

Założenie, że płyn krąży w przestrzeni 2D jest dużym uproszczeniem. W rzeczywistości płyn krąży pomiędzy ścianami NCHN w nieregularnej trójwymiarowej przestrzeni ograniczonej dwiema osłonami ścian NCHN i teowymi spoinami ścian tworząc razem skomplikowany system kanałów. Ułożenie zgrzewów zapewnia przestrzennie równomierny przepływ, rozbijając wlotowy główny strumień cieczy na wiele mniejszych strumieni. Układ połączeń w prototypach został zaprojektowany w oparciu o wykonanie wielu obliczeń numerycznych i wybór optymalnego modelu o najbardziej równomiernym polu prędkości przepływu wewnątrz przestrzeni przepływu. Model numeryczny wymaga walidacji eksperymentalnej przeprowadzonej przez pokazanie zgodności wyników eksperymentów z obliczonymi z modelu prędkościami przepływu w pobliżu 19 punktów zaznaczonych na Rysunek VI.8.



Rysunek VI.8. NCHN z zaznaczonymi punktami pomiarowymi, a) schemat 3D NCHN, b) numeracja punktów pomiarowych na tle numerycznej prognozy prędkości przepływu, c) punkty pomiarowe zaznaczone na prototypie S NCHN.

Istotne dla modelowania są założenia dotyczące charakteru przepływu w tak skomplikowanym układzie przepływowym. Średnica długości charakteryzująca rozważany przepływ, D , jest zmienna w różnych punktach NCHN. Maksymalnie wynosi 12 mm dla prototypu w rozmiarze S. Grubość ścianki, czyli trzeci wymiar przestrzeni przepływu, po napełnieniu płynem jest mniejsza niż 10 mm. Lepkość wody z domieszką skrobi jest rzędu $1,0034 \text{ mm}^2/\text{s}$ w temperaturze pokojowej. Liczbę Reynoldsa charakteryzującą charakter przepływu wyraża się wzorem:

$$Re = \frac{\rho \cdot u \cdot D}{\nu} \quad (5)$$

gdzie: ρ to gęstość płynu, u prędkość przepływu, D to charakterystyczny wymiar liniowy, a ν to lepkość kinematyczna płynu.

Oznacza to, że przepływ charakteryzuje się liczbą Reynoldsa mniejszą niż 2100, jeżeli prędkość przepływu nie przekracza 211 mm/s i może być modelowany jako przepływ laminarny przy założeniu, że wymiar charakterystycznej przestrzeni przepływu jest równy 10 mm, czyli równy maksymalnej odległości między ścianami wewnątrz NCHN. Należy zauważyć, że płyn krążący w NCHN ma temperaturę obniżoną do 4 °C podczas trwania

operacji. Wówczas zapewniony jest przepływ laminarny do prędkości 300 mm/s, ze względu na zwiększoną lepkość kinematyczną do wartości 1,5674 mm²/s.

Krzywizna kanału miejscowego, w którym odbywa się przepływ również wpływa na laminarność przepływu. Bezwymiarową wielkością charakteryzującą przepływ w kanałach zakrzywionych jest liczba Dean'a, która wyraża się wzorem:

$$De = Re \sqrt{\frac{D}{2 Rc}} \quad (6)$$

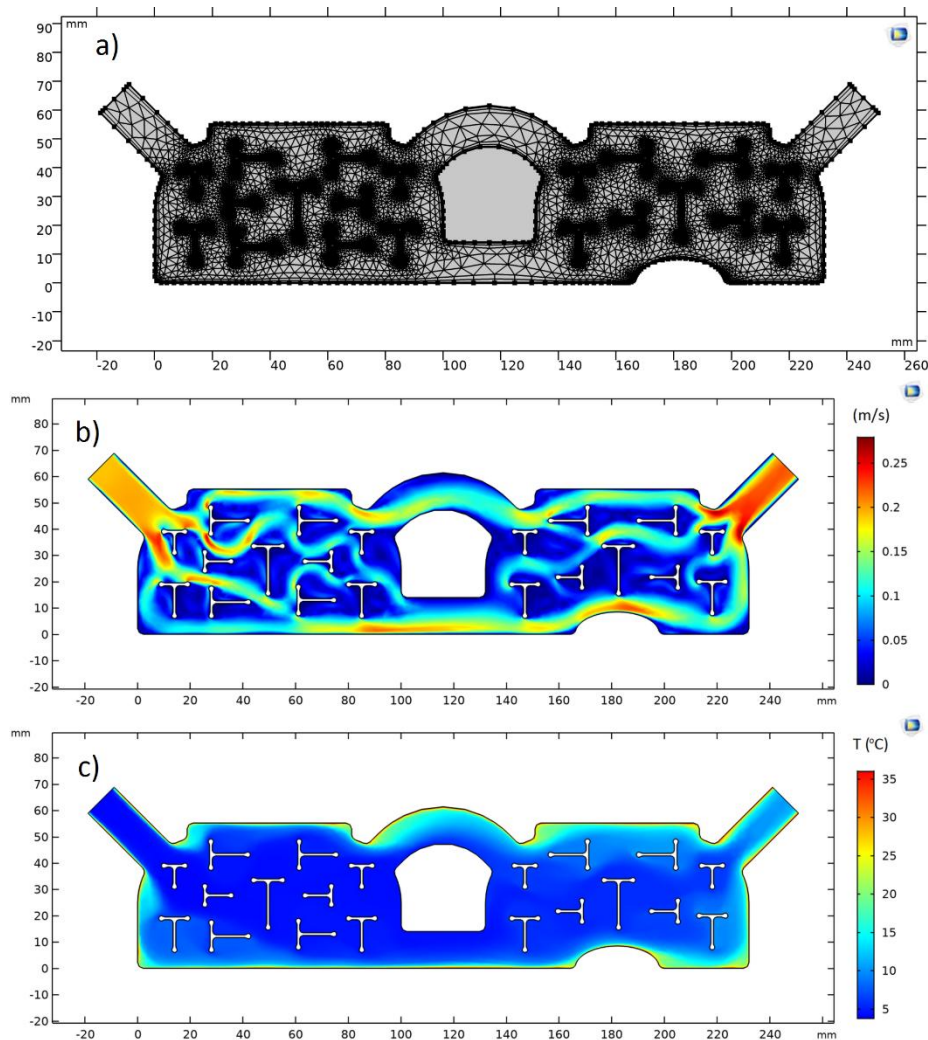
gdzie Rc – promień krzywizny kanału.

Liczba Dean'a jest więc iloczynem liczby Reynoldsa i pierwiastka kwadratowego ze stosunku rozmiaru charakterystycznego do podwojonego promienia krzywizny. Dla liczby Dean'a w zakresie 40 – 60 przepływ można uznać za całkowicie jednokierunkowy. Wraz ze wzrostem liczby Dean'a z zakresu 40 – 60 do zakresu 64 – 75, w przekroju można zaobserwować pewne falujące perturbacje, a w pełni turbulentny przepływ kształtuje się dla zakresu liczby Dean'a powyżej 75.

6.3. Wyniki i dyskusja.

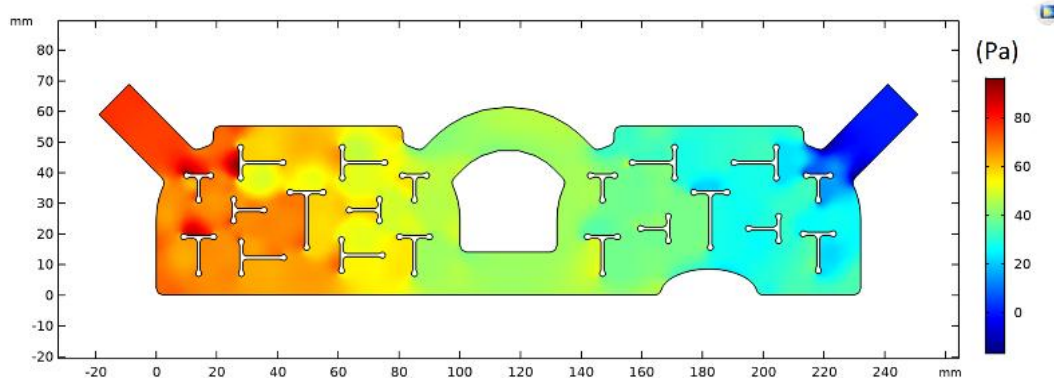
Model MES umożliwia analizę zarówno pola prędkości płynu w układzie przepływu 2D, jak i pola ciśnienia. Na dopływie ustawiono stałą prędkość, równą średniej prędkości uzyskanej w tym miejscu z pomiaru dopplerowskiego. Wypływ cieczy był swobodny.

Rysunek VI.9. przedstawia siatkę elementów skończonych, obliczone prędkości przepływu i rozkład pola temperatury.



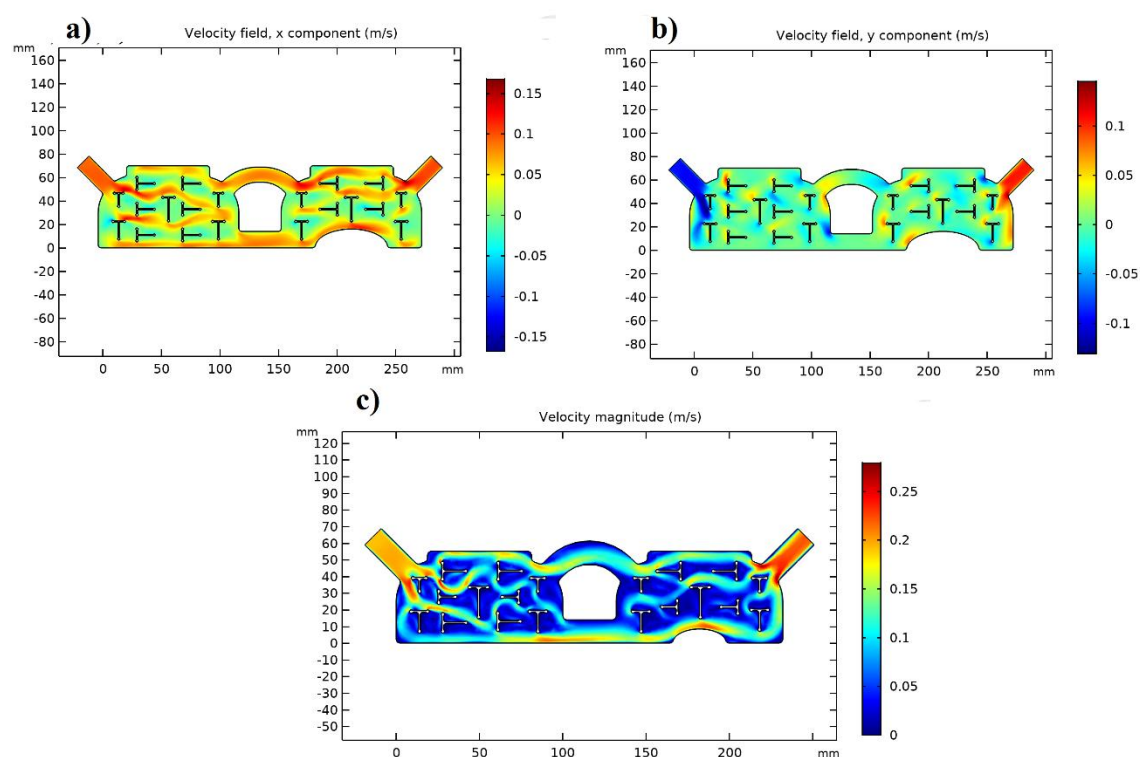
Rysunek VI.9. Obliczenia MES prędkości przepływu i rozkładu temperatury.

W prostoliniowych odcinkach przepływu siatka jest raczej rzadka, ale znacznie gęstsza wokół przegród wewnętrznych w kształcie litery T. Zakładając, że dopływająca ciecz ma temperaturę około 5 °C, a krawędź ma temperaturę 37 °C, rozkład temperatury jest prawie jednorodny. 90% powierzchni ma temperaturę poniżej 7 °C. Na Rysunek VI.10 pokazano spadek ciśnienia przepływu od wlotu do wylotu.



Rysunek VI.10 Rozkład ciśnienia przepływu w NCHN.

Jednorodny charakter gradientu ciśnienia potwierdził efektywny rozkład strumienia cieczy przez przegrody, dzięki czemu przepływ jest w konsekwencji jednorodny przestrzennie. Mapy składowych poziomej i pionowej kierunku prędkości przepływu w porównaniu z wartościami prędkości pokazano na Rysunek VI.11. i potwierdzają, że 80 % obszaru jest zdominowane przez ruch w kierunku osi x. Uzyskane wyniki obrazują krzywiznę głównych strumieni przepływu płynu.



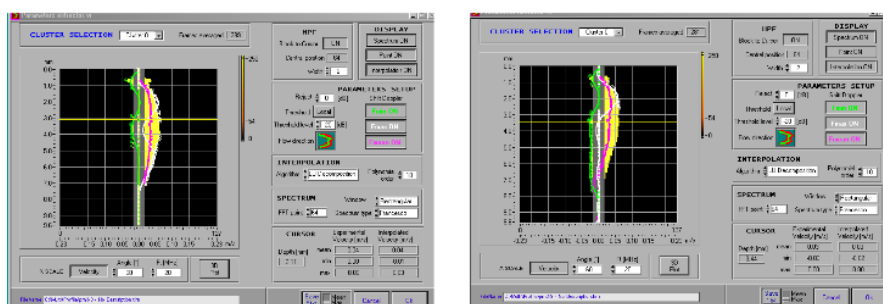
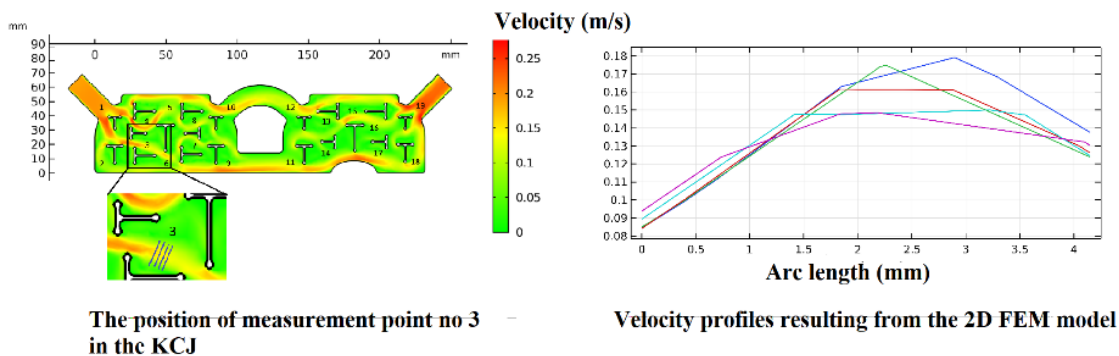
Rysunek VI.11. Pole prędkości i jego składowe x i y, czyli pozioma i pionowa.

Strumienie te omijają przegrody, a kształt ścieżki przepływu ma znacznie mniejszą krzywiznę niż krzywizna krawędzi przegród. W poprzek kierunku strumienia w pobliżu każdego z 19 punktów pomiarowych prześlędzono 10 profili prędkości. Wykorzystano je do wyznaczenia średniej prędkości wokół punktów. Dane te są podane w Tabeli VI.1.

Tabela VI.1. Wartości średnie pola prędkości w 19 punktach pomiarowych. W wierszach kolejno wyniki pomiarów – „exp”, wyniki modelowania numerycznego – „num” oraz ‘error’ błąd procentowy względnej różnicy pomiędzy pomiarem i predykcją modelu numerycznego – „% error”

| | | | | | | | | | | |
|---------|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| Point | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Exp. | 17 | 2.1 | 3.1 | 13.3 | 7.8 | 11.8 | 6.2 | 9.7 | 4.8 | 41.2 |
| Num. | 17 | 3.5 | 4.4 | 12.9 | 8.8 | 12.2 | 6.5 | 10.3 | 5.1 | 17.4 |
| % error | 0 | 40 | 29.5 | 10.8 | 11.4 | 3.3 | 4.6 | 5.8 | 5.9 | 136.8 |
| Point | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | |
| Exp. | 4.2 | 8.4 | 12.2 | 3 | 13.8 | 10.3 | 10.8 | 3 | 16.1 | |
| Num. | 7.6 | 9.2 | 10.1 | 3.3 | 13.3 | 10.7 | 11.4 | 7.1 | 16 | |
| % error | 44.7 | 8.7 | 20.8 | 9.1 | 3.8 | 3.7 | 5.3 | 57.7 | 0.6 | |

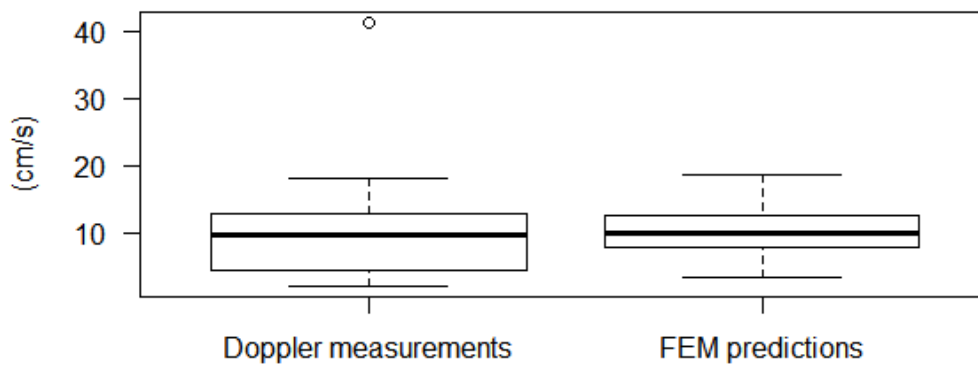
Na przykład na Rysunek VI.12. pokazano odcinki w pobliżu punktu nr 3, na których wyznaczono wartości z MES 5 profili, te 5 profili w funkcji zmiennej położenia oraz dwa profile uzyskane z pomiaru Dopplera.



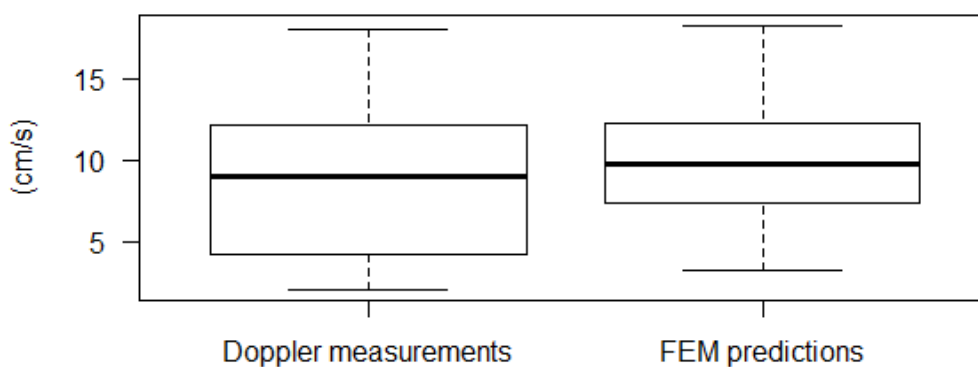
Velocity profiles (2 from 10) resulting from Doppler measurements

Rysunek VI.12. Przykład obliczenia średniej prędkości z modelu MES poprzez użycie kilku profili prędkości oraz obrazy profili otrzymane z pomiarów Dopplera wokół punktu nr 3.

Można zauważyć dużą spójność kształtu profili uzyskanych z obliczeń i zmierzonych metodą Dopplera. Średnie prędkości dla wszystkich 19 punktów obliczone numerycznie i zmierzone przez Dopplera są podane w Tabeli VI.1. Do graficznego porównania wartości „globalnych” prędkości przepływu uzyskanych z pomiarów i modelu numerycznego, rozumianego tutaj jako średnia wszystkich danych pomiarowych z 19 punktów w całej przestrzeni przepływu, wykorzystano dwa wykresy pudełkowe przedstawione na Rysunek VI.13 i Rysunek VI.14. Rysunek VI.14 pokazuje to porównanie po wykluczeniu wartości odstającej ze zbioru danych pomiarowych. Wartością odstającą był punkt pomiarowy nr 10, a średnia wartość prędkości przepływu zmierzona metodą Dopplera wyniosła 41 cm/s. Był to punkt znajdujący się na krawędzi ostrego zagięcia ściany NCHN. Odstający efekt pomiaru może być związany ze znaczną krzywizną strumienia przepływu i zwężeniem światła przepływu w tym punkcie, co skutkuje bardzo dużą prędkością. Ta sytuacja nie znalazła odzwierciedlenia w obliczeniach numerycznych, model jest wyidealizowany 2D, a strumień w pobliżu punktu 10 nie ma dużej krzywizny, liczba Dean'a w tym punkcie jest rzędu 1.



Rysunek VI.13. Wykresy pudełkowe wartości globalnych prędkości pomierzonych i przewidywanych przez model numeryczny.



Rysunek VI.14. Wykresy pudełkowe globalnych wartości prędkości pomierzonych i przewidywanych przez model numeryczny po usunięciu elementu „odstającego”.

Różnica między globalną średnią z pomiarów Dopplera prędkości przepływu, a przewidywaniem modelu numerycznego wynosi 11% wartości numerycznej. Wartości liczbowe prawie 60% wyników obu pomiarów różnią się znacznie mniej niż 10% prędkości przewidywanej przez model MES. Podkreślamy, że SD (odchylenie standardowe) pomiarów Dopplera wynosi ponad 10% wartości średniej. Ponadto pomiary w poszczególnych punktach i wyniki przewidywane przez model MES są statystycznie silnie skorelowane, współczynnik korelacji Pearsona wynosi 0,74 (wartość $p = 0,0004$). Zachowanie kąta oznaczonego przez θ w czasie pomiaru Dopplerowskiego w równaniu. (1), por. Rysunek VI.1., pomiędzy kierunkiem przepływu, a kierunkiem wiązki, zawodzi w miejscach, gdzie przepływ gwałtownie zmienia kierunek jest trudne. Są to takie obszary NCHN, w których dwie ściany boczne łączą się, składając je w trójwymiarowy kształt NCHN. Model 2D, który jest obrazem rzutu konstrukcji NCHN i na płaszczyznę po „przecięciu” NCHN na dwie połowy, w żaden sposób nie oddaje efektu trójwymiarowej geometrii przepływu. Pomiary przeprowadzone w punktach 9,10, 11,13 i 18 różnią się bardziej od wartości uzyskanych z modelu

numerycznego niż w pozostałych punktach. Czułość pomiaru na ustawienie kierunku głowicy ultradźwiękowej na kierunek przepływu, nieznaną w czasie eksperymentu, powoduje, że otrzymane przybliżenie prędkości może zawierać takie błędy względne. Wskazano na to w rozdziale Materiały i Metody, podczas gdy komentowaliśmy wrażliwość prędkości na kąt θ w tekście następującym po równaniu (2). Rzeczywista krzywizna toru przepływu implikuje błędy w założonym pomiarze kąta pomiędzy kierunkiem przepływu, a kierunkiem wiązki ultradźwiękowej. Powiązanie skutków krzywizny na odbiegający od prawdy wynik pomiaru Dopplerowskiego był badany w wielu pracach dotyczących przepływu w naczyniach, pr. [Balbis2004]. Względna różnica między pomiarem prędkości Dopplera a danymi z modelu MES, czyli procentowy błąd, z którym model nie zgadza się z pomiarem, wynosi 8,8%. Dodatkowo jeśli pominiemy wartości z punktów 9,13 i 18 ten błąd zmniejsza się do wartości 4,6%. Pomiar całkowicie zintegrowany z ultradźwiękowym obrazowaniem struktury ściany ograniczającej przepływ umożliwiłby identyfikację kierunku strumienia i precyzyjne ukierunkowanie wiązki ultradźwiękowej wokół kierunku przepływu w każdym punkcie pomiarowym, co było wykorzystane w pracy [Nowicki 2018] czego tutaj nie wykonano. Tutaj, ograniczono się do uzasadnienia poprawności przeprowadzonych eksperymentów poprzez wykonanie dodatkowego pomiaru ultradźwiękowego z wykorzystaniem obrazowania komercyjnego tzw. kolorowym Dopplerem. Ilustrację tego pomiaru przedstawiono na Rysunek VI.6. Należy zaznaczyć, że kształt przestrzeni przepływowych wewnątrz ścian bocznych NCHN powoduje, że liczba Dean'a jest bardzo duża w miejscach, w których wewnętrzne „litery T” znajdują się na drodze strumienia płynu. Ograniczamy jednak rozważania do charakteru strumieni głównych, które mają mniejszą krzywiznę i liczbę Dean'a rzędu 1, co uzasadnia założenie przepływu laminarnego w wyidealizowanym modelu MES.

6.4. Wnioski.

Największe rozbieżności między dopplerowskim pomiarem prędkości pola przepływu a obliczeniami wykonanymi w modelu numerycznym występują w miejscach, gdzie krzywizna rury przepływowej nie jest równa zero oraz w punktach zlokalizowanych na kanałach łączących dwie części NCHN, które są mocno wygięte w przestrzeni. Podobnie jak w przypadku szczegółowo analizowanego tutaj prototypu rozmiaru S NCHN, pomiary wykonane w nakładkach M i L były podobnie zgodne z obliczeniami numerycznymi w punktach, w których strumień nie zakrzywiał się zbyt mocno. Należy zauważyć, że przestrzeń przepływu nie była osiowo symetryczna względem kierunku przepływu. Mimo to pomiar był

zgodny z błędem mniejszym niż 5% w ponad 80% punktów pomiarowych, z wyłączeniem punktów, w których wyjaśniono przyczynę błędu. Podkreślamy, że kierunek przepływu i kąt pomiędzy kierunkiem przepływu a kierunkiem wiązki został utrzymany mechanicznie na poziomie 67 °C. Dopiero, gdy pomiar był wykonywany w punkcie, w którym trudno było znaleźć przepływ zbliżony do laminarnego, wartości pola prędkości wyznaczone z modelu 2D silnie odbiegają od pomiarów. Uproszczony model geometryczny 2D prototypów został przedstawiony przy użyciu programu COMSOL Multiphysics do symulacji przepływu płynu przy założeniu modelu przepływu laminarnego, patrz Rozdział V. Porównując przewidywania numeryczne z danymi eksperymentalnymi, wykazano, że uproszczony model 2D jest wystarczająco dokładny, aby przewidzieć rozkład przepływu wewnętrznego pola prędkości płynu w NCHN. Rozbieżność pomiędzy średnią prędkością zmierzoną Dopplerem 20 MHz a wynikami liczbowymi była związana głównie z wrażliwością pomiaru na zmianę kierunku lokalnego strumienia przepływu. Kierunek strumienia i średnią prędkość dodatkowo określano przy użyciu komercyjnego kolorowego obrazowania Dopplera.

ROZDZIAŁ VII

VII. Badania ex vivo

Opisana w tym rozdziale doświadczalna walidacja efektywności opracowanego urządzenia została zamieszczona w dokumentacji projektowej wyrobu. Proces walidacji wykonano zgodnie z normą [ISO 13485].

Walidacja urządzenia: Opis walidacji wydajności chłodzącej urządzenia medycznego.

7.1. Cel i zasięg prac badawczych.

Celem walidacji ex vivo było sprawdzenie doświadczalne wielkości zmiany temperatury wstępnie schłodzonego (w całej objętości) do temperatury 4 °C narządu (nerki świńskiej) umieszczonej w NCHN w czasie 60 minut podczas których panowały różne zewnętrzne warunki termiczne otoczenia. Dodatkowo w przeprowadzanych badaniach zmieniano ilość płynu chłodzącego w celu określenia minimalnej objętości medium chłodzącego wystarczającej do utrzymania dopuszczalnego tempa wzrostu temperatury w warunkach imitujących operację przeszczepu.

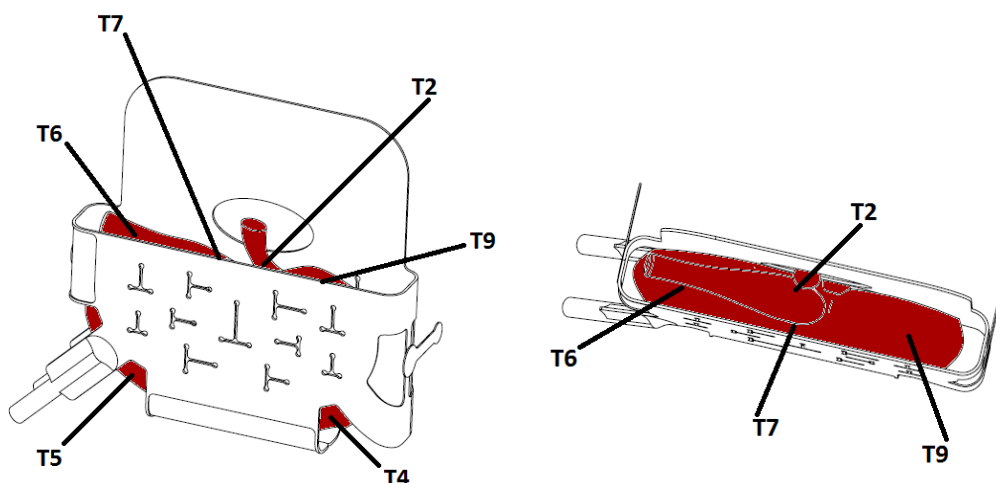
7.2. Materiał i metoda badawcza walidacji ex vivo.

Materiałem badawczym były **wieprzowe nerki** o średnich wymiarach równych 12 cm x 8 cm x 3 cm. Przed wykonaniem doświadczenia narządy schłodzono do temperatury 4 °C. Podczas eksperymentu zasymulowano termiczne warunki zabiegu transplantacji. Wieprzową nerkę umieszczono w urządzeniu chłodzącym NCHN. Wykorzystano **nakładkę chłodzącą w rozmiarze pośrednim M** [Rozdział III]. użytym płynem chłodzącym włączonym do obiegu w NCHN był chlorek sodu 0,9% NaCl firmy WET Baxter o numerze serii 19G06E2L lub woda. Początkowa temperatura płynu chłodzącego wynosiła 4°C. Warunki termiczne panujące w jamie ciała podczas przeszczepu z wykorzystaniem chirurgii otwartej oraz warunki termiczne panujące podczas operacji laparoskopowej i robotycznej zasymulowano poprzez układ elektryczny z minimalną nastawą temperaturową równą 40 °C dla tego urządzenia grzewczego. Zaznaczmy, że podczas operacji laparoskopowych nakładka chłodząca umieszczana jest w całości wewnątrz organizmu. Warunki operacji laparoskopowej zasymulowano więc poprzez całościowe nakrycie nakładki chłodzącej przez poduszkę grzewczą elektryczną. Mimo, iż podczas zabiegów chirurgii otwartej NCHN jest częściowo umieszczona w jamie ciała pacjenta to obrano gorszy wariant analizy termicznej i wszystkie

testy wykonano z całościowym nakryciem NCHN poduszką grzewczą elektryczną. Do chłodzenia cieczy krążącej w NCHN użyto specjalnego żelu chłodzącego lub kostek lodu. Elementy podczas walidacji wyrobu połączoną jak na Rysunek VII.1.



Rysunek VII.1. Stanowisko doświadczalne ex vivo.



Rysunek VII.2. Schematyczne rozmieszczenie termopar w nerce.

W procesie walidacji użyto pompy perystaltycznej laboratoryjnej serii BT101L z głowicą YZ15 o wydajności 0,006 ml/min ÷ 420 ml/min oraz pompy laboratoryjnej perystaltycznej firmy Masterflex. Pomiar temperatury wykonano z użyciem 8 termopar typu - 201K-1b-200-1,0 średnica 0,5 mm, rodzaj termo-elementu płaszczowego (K) NiCr-NiAl oraz elektronicznego termometru DT-34 z czujką 120 mm i zakresem pomiarowym od -100 °C do +270 °C. 6 termopar zostało bezpośrednio umieszczonych w nerce, por. Rys.VII. 2. Termopara oznaczona nr 2 została umieszczona w zespoleniu naczyniowym na głębokości 0,5

cm od powierzchni naczyń. Termopary nr 4 i nr 5 umieszczono przez dolne boczne wycięcia w nakładce i osadzono w nerce na głębokość 1,5 cm od powierzchni narządu. Termopary nr 6, nr 7 i nr 8 umieszczono względem siebie, co 3 cm na górnej powierzchni nerki na głębokości kolejno 0,5 cm, 2 cm i 0,5 cm. Dwie termopary użyto do odczytu temperatury między NCH, a poduszką grzewczą elektryczną (termopara nr 1) oraz między narządem (nerką) a NCH (termopara nr 3). Doświadczenia przeprowadzono w warunkach pokojowych w temperaturze około 21 °C. Czas trwania walidacji urządzenia wynosił do 60 min. Badania walidacyjne urządzenia przeprowadzono w następujących wariantach termicznych (Tabela VII.1.):

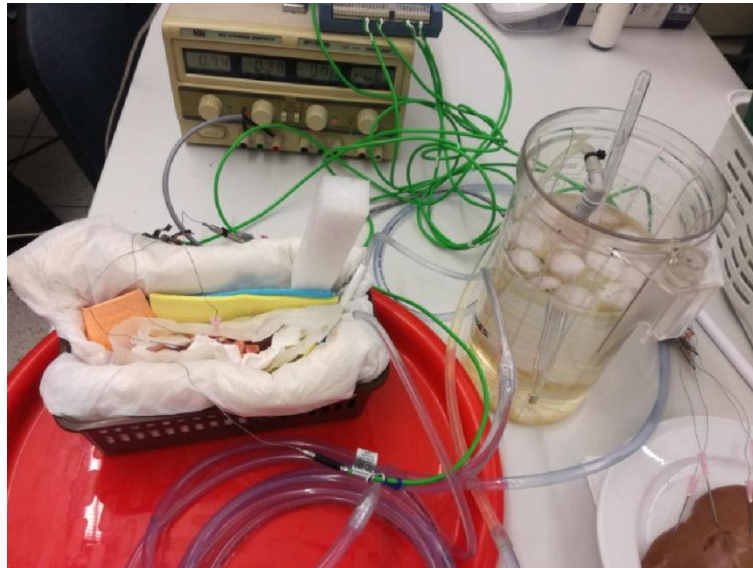
Tabela VII.1. Warianty termiczne dla walidacji urządzenia medycznego.

| Wariant termiczny / Warunki badania | Wariant nr 0 | Wariant nr 1 | Wariant nr 2 | Wariant nr 3 | Wariant nr 4 | Wariant nr 5 | Wariant nr 6 |
|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Symulacja organizmu: Użycie poduszki grzewczej elektrycznej | X | | X | X | X | X | X |
| Płyn chłodzący: Sól fizjologiczna o pojemności 500 ml | | | | X | | | |
| Płyn chłodzący: Sól fizjologiczna o pojemności 1000 ml | | X | X | | | | |
| Płyn chłodzący: Woda o pojemności 1000 ml | X | | | | X | X | |
| Wymiennik ciepła: Żel chłodzący w postaci rękawa chłodzącego | | X | X | X | | | |
| Wymiennik ciepła: Kostki lodu | X | | | | X | | |
| Transport płynu chłodzącego: Użycie pompy perystaltycznej | X | X | X | X | X | X | |

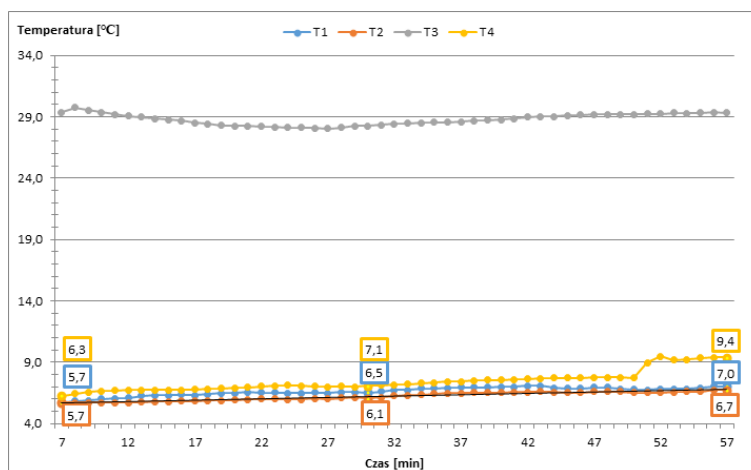
A. Wariant nr 0

Doświadczenie zerowe zostało wykonane podczas procesu projektowania NCHN. W celu wstępnego określenia rozkładu temperatury wewnątrz wieprzowej nerki użyto prototypowej nakładki w rozmiarze L. Wykonano dwa pomiary rozkładu temperatury (Rysunek VII.3). Nerkę chłodzono aktywnie. Płynem chłodzącym była woda ochładzana kostkami lodu. Temperatura cieczy stale wynosiła 4 °C. Do pomiaru temperatury wykorzystano 4 termopary, które umieszczono na różnych głębokościach pomiarowych. Pomiar nr 1 wykonano z użyciem trzech termopar umieszczonych na głębokości 3 cm od górnej powierzchni nerki. Czas trwania pomiaru nr 1 wynosił 60 minut. Pomiar nr 2 wykonano z użyciem 3 termopar umieszczonych na głębokości 1 cm od górnej powierzchni narządu. Pomiar nr 2 wykonano przez 30 minut. Jedna termopara (T1) mierzyła wartość temperatury poduszki grzewczą

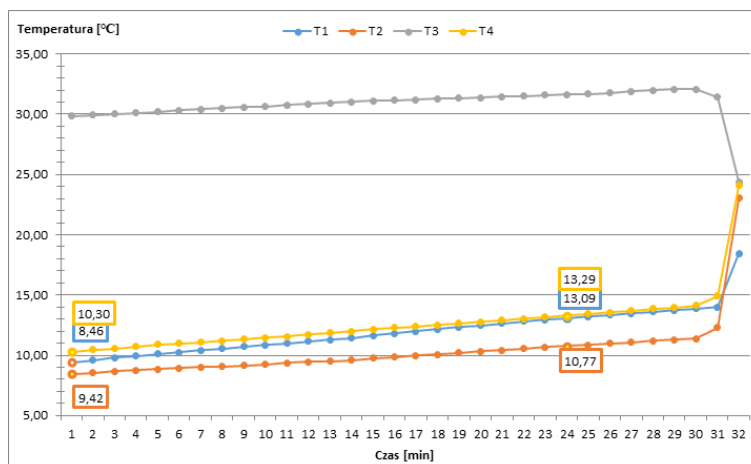
elektrycznej. Uzyskane wyniki podczas projektowania nakładki opublikowano w [Korcak 2018]. Na Rysunek VII.3 przedstawiono stanowisko pomiarowe, a na Wykres VII.1 oraz Wykres VII.2 zilustrowano rozkład temperatury w nerce.



Rysunek VII.3. Stanowisko badawcze dla doświadczenia Wariant nr 0.



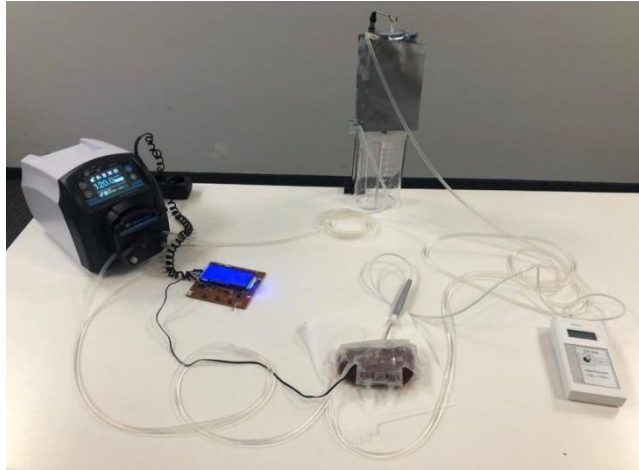
Wykres VII.1. Rozkład temperatury w nerce dla doświadczenia wariant 0 w czasie 60 minut.



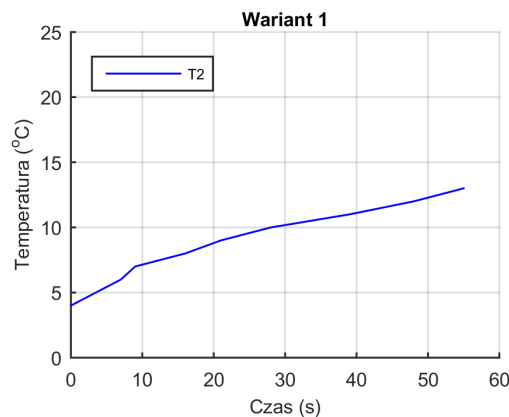
Wykres VII.2. Temperatury w nerce dla doświadczenia wariant 0 w czasie 30 minut.

B. Wariant nr 1

Doświadczenie przeprowadzone w wariacie 1 stanowi symulację warunków operacji transplantacji przeprowadzonej w temperaturze pokojowej tj. około $21 \div 23$ °C. Pomiaru temperatury dokonano z użyciem jednego punktu pomiarowego umiejscowionego w miejscu osadzenia termopary T2. Stanowisko pomiarowe przedstawiono na Rysunek VII.4, a na Wykres VII.3 zilustrowano wzrost temperatury dla Wariantu 1 (tylko termopara T2).



Rysunek VII.4. Stanowisko badawcze.



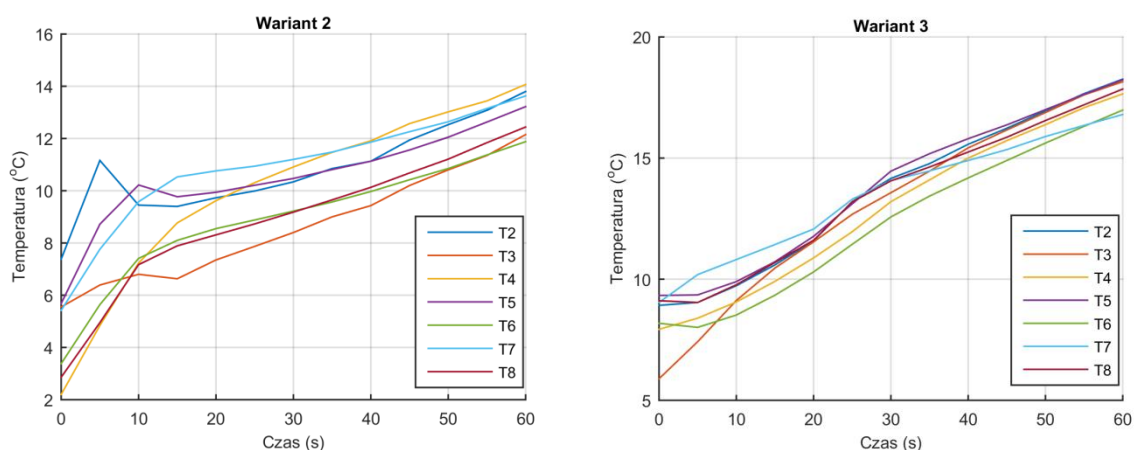
Wykres VII.3. Wzrostu temperatury dla doświadczenia Wariant nr 1.

C. Wariant nr 2 i wariant nr 3

Doświadczenia termiczne przeprowadzone w wariacie nr 2 i nr 3 stanowią symulację warunków transplantacji wykonywanej metodą małoinwazyjną, laparoskopową. Cieczą chłodzącą była sól fizjologiczna. Chłodzenie było pasywne. Wymiennikiem ciepła był żel chłodzący w postaci rękawa chłodzącego. Stanowisko pomiarowe przedstawiono na Rysunek VII.5. Na Wykres VII.4 przedstawiono zależności temperatury w czasie dla Wariantu 2 i 3 dla termopar od T2 do T8.



Rysunek VII.5. Stanowisko badawcze dla doświadczenia Wariant nr 2 i Wariant nr 3.



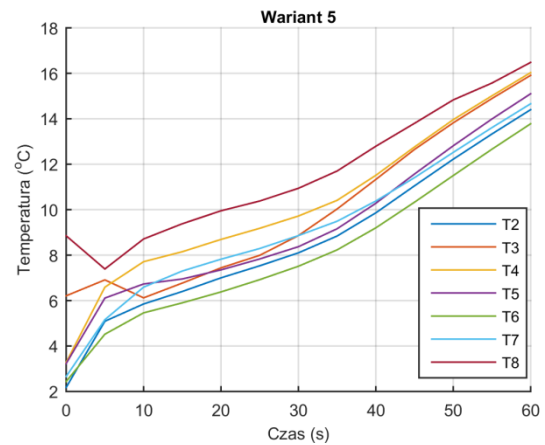
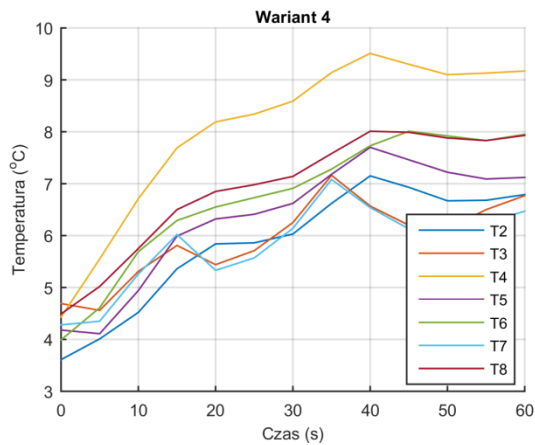
Wykres VII.4. Wzrost temperatury dla doświadczenia Wariant nr 2 oraz Wariant nr 3.

D. Wariant nr 4 i wariant nr 5

Doświadczenie nr 4 i 5 zostało przeprowadzone dla określenia rozkładu temperatury wewnątrz nerki z wykorzystaniem wody jako cieczy chłodzącej. W wariacie nr 4 ciecz chłodzącą utrzymywano w temperaturze 4 °C dosypując do pojemnika z wodą kostki lodu (aktywne chłodzenie). W wariacie nr 5 ciecz chłodzącą o początkowej temperaturze równej 4 °C nie ochładzano w czasie doświadczenia. Stanowisko badawcze dla wariantu 4 i 5 przedstawiono na Rysunek VII.6. Uzyskany podczas badania rozkład temperatury przedstawiono na Wykres VII.5.



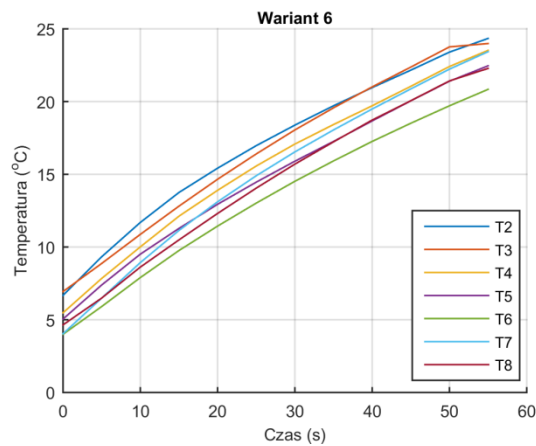
Rysunek VII.6. Stanowisko badawcze dla doświadczenia Wariant nr 4 i Wariant nr 5.



Wykres VII.5 Wzrost temperatury dla doświadczenia Wariant nr 4 oraz Wariant nr 5.

E. Wariant nr 6

Doświadczenie przeprowadzone w wariacie termicznym nr 6 symuluje warunki przeszczepu bez użycia NCHN. Transplantowany narząd otulony został poduszką grzewczą elektryczną na cały czas symulacji zabiegu transplantacji z użyciem technik małoinwazyjnych.



Wykres VII.6. Wzrost temperatury dla doświadczenia Wariant nr 6.

7.3. Wyniki i analiza.

Poniżej przedstawiono uzyskane wyniki temperatury nerki i jej najbliższego otoczenia podczas badań termicznych w sześciu wariantach. Dane pomiarowe zilustrowano na poszczególnych wykresach, które dołączono do Tabela VII.2.

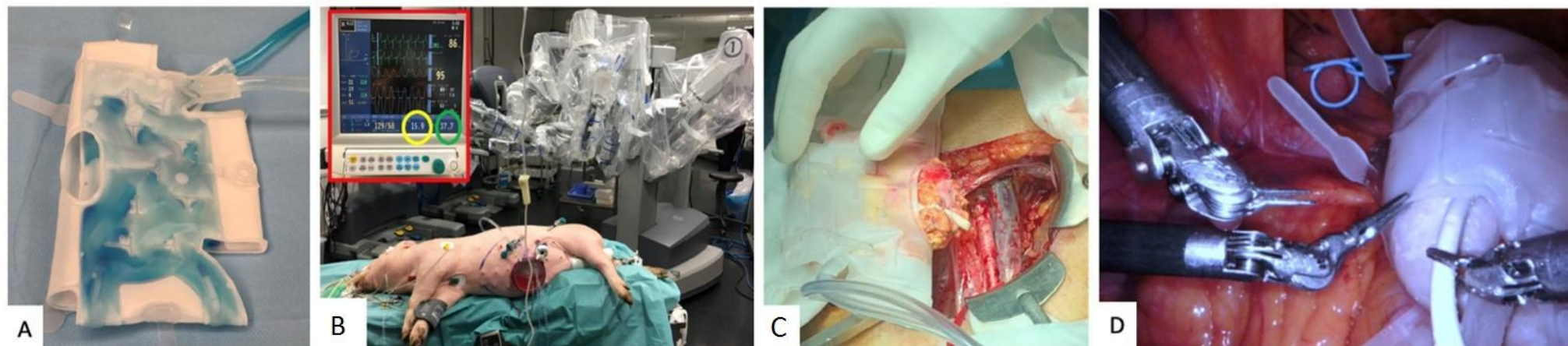
W kolumnie Wariant 1 w pierwszym wierszu pokazano wzrost temperatury zmierzony termoparą T2 wraz z naniesioną linią regresji oraz jej równaniem wstawionym w legendę. Na pozostałych kolumnach pierwszego wiersza przedstawiono uśredniony po termoparach od T2 – T8 wzrost temperatury wraz z zaznaczonymi odchyleniami standardowymi dla kolejnych wariantów przeprowadzonych pomiarów, a także nakreślono linie regresji liniowej których równania znajdują się we wstawionych legendach. Rozrzut wartości temperatury w różnych punktach pomiarowych po upływie 1 godziny wynosił od 6,77 °C do 24,34 °C. Największy rozrzut wyników pomiarów otrzymano dla wariantu 6, a najmniejszy dla wariantu 4. Wyznaczona z regresji liniowej stała opisująca tempo wzrostu temperatury jest parametrem proporcjonalnym do końcowej średniej temperatury nerki osiągniętej po 1 godzinie doświadczenia, oznaczmy ją literą „k”. Największą wartość k otrzymano w wariacie 6, gdzie również otrzymano najwyższą temperaturę końcową. Było to doświadczenie, w którym naśladowano warunki termiczne w narzędzie nie zabezpieczonym NCHN w czasie operacji laparoskopii. Najmniejsze tempo wzrostu temperatury, czyli najmniejszą wartość k, otrzymano w wariacie 4, w którym zastosowano aktywne chłodzenie wody objętości 1000 ml krążącej wewnątrz NCHN. Parametr k wzrasta dwa i pół razy, gdy zamienimy chłodzenie pasywne na aktywne. Podobnie, parametr ten mierzy doskonale wpływ ilości wody znajdującej się w obiegu w NCHN. Mianowicie k jest prawie siedmiokrotnie wyższe, gdy ilość wody jest podwojona, zamiast 500 ml, mamy 1000ml.

Tabela VII.2. Wzrost temperatury nerki i jej najbliższego otoczenia dla sześciu wariantów przeprowadzonych pomiarów.

| Rodzaj procedury medycznej | „Operacja na całkowicie otwartej jamie ciała” – brak grzania temperatura otoczenia c/a 21 °C | | „Operacja w laparoskopii” – grzanie poduszką elektryczną | | | |
|--------------------------------------|--|---------------------------|--|-----------|---|-----------------------|
| | Pojemność płynu chłodzącego | Ilość cieczy w obiegu NCH | | | | Brak NCH |
| Metoda chłodzenia / Wymiennik ciepła | 1000 ml | 1000 ml | 500 ml | 1000 ml | 1000 ml | |
| | Chłodzenie pasywne płynu: rękawem chłodzącym, chłodzenie cieczy przez powierzchnię pojemnika | | Sposób chłodzenia cieczy krążącej w NCH | | Chłodzenie aktywne płynu: rozpuszczanie kostek lodu w pojemniku, utrzymywanie stałej temperatury 4 °C | Brak chłodzenia płynu |
| Wariant termiczny | Wariant 1 | Wariant 2 | Wariant 3 | Wariant 4 | Wariant 5 | Wariant 6 |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| Stała regresji liniowej "k" | 0.14 | 0.091 | 0.16 | 0.037 | 0.17 | 0.28 |
| Max średnia T [°C] po 60min | 9,30 | 13,26 | 17,89 | 7,41 | 17,18 | 23,11 |

Wyniki walidacji urządzenia medycznego wykonana przez klinicystów.

Nakładka chłodząca została również z walidowana przez lekarzy chirurgów. Zespół specjalistów opracował kilku etapowy plan walidacji [Territo 2021]. Urządzenie sprawdzono w testach ex vivo, testach in vivo na zwierzęcym modelu oraz testach in vivo z udziałem ludzi (Tabela VII.3). Przed rozpoczęciem testów urządzenia medycznego sprawdzono rozchodzenie się cieczy wewnątrz NCHN. Nakładkę wypełniono płynem zabarwionym na niebiesko i oceniono, czy wszystkie kanały nakładki zostały wypełnione cieczą (Rysunek VII.7. A). Do testów ex vivo użyto wieprzowych nerek. Testy ex vivo przeprowadzono na 15 wieprzowych nerkach podzielonych na 3 grupy badawcze. Pierwsza z grup obejmowała 5 nerek umieszczonych w NCHN, kolejne 5 nerek schłodzono białym błotem pośniegowym, zaś ostatnia grupa składała się z pięciu nie chłodzonych narządów. Pomiarów temperaturowych dokonywano w wyznaczonych odstępach czasu. Podczas badań ex vivo z użyciem nakładki chłodzącej odnotowano w 20 min pomiaru temperaturę równą 12,4 °C. W 50 min pomiaru wartość temperatury wynosiła 19,9 °C. W pozostałych dwóch grupach badawczych w 20 min pomiaru odnotowano temperaturę powyżej 12 °C. W 50 min pomiaru testów ex vivo odnotowano temperatury powyżej 25 °C. Nie odnotowano statystycznej różnicy temperatur między drugą a trzecią grupą badawczą. W wyniku walidacji urządzenia przeprowadzono także testy in vivo na zwierzęcym modelu (Rysunek VII.7. B) oraz **testy in vivo z udziałem ludzi**. Testy in vivo przeprowadzono z wykorzystaniem dwóch procedur medycznych. Nakładkę chłodzącą przetestowano w zabiegach CHO (Rysunek VII.7. C) jak i CHR (Rysunek D). Podczas badań in vivo na materiale zwierzęcym w CHR odnotowano w 20 minucie pomiaru temperaturę równą 13,7 °C, zaś podczas zabiegu CHO temperatura transplantu wynosiła 8,7 °C. W 50 minucie pomiaru temperatura narządu wynosiła odpowiednio 14,9 °C oraz 10,8 °C. Przeprowadzone testy in vivo z udziałem ludzi podczas zabiegu transplantacji stanowią najbardziej miarodajną walidację urządzenia medycznego. Walidacja NCHN z udziałem ludzi została przeprowadzona w CHR jak i w zabiegu CHO. Podczas operacji z udziałem CHR odnotowano temperaturę 20°C (pomiar w 20 minucie pomiaru jak i w 50 minucie pomiaru). W zabiegu CHO temperatura nerki w 20 minucie pomiaru wynosiła 16,5 °C, zaś w 50 minucie pomiaru klasyfikowała się na poziomie 18,9 °C.



Rysunek VII.7. A. NCHN wypełniona zabarwionym płynem, B. Testy in vivo na zwierzęcym modelu, Testy in vivo z udziałem ludzi w C. CHO i D. CHR.

Tabela VII.3. Rozkład temperatury nerki podczas testów walidacji NCHN w różnych warunkach operacji.

| Rodzaj testu | | Rozkład temperatury w nerce w czasie [°C] | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|-------------------------|---|-------|-------|--------|--------|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|-------------|
| | | 0 min | 1 min | 5 min | 10 min | 15 min | 20 min | 25 min | 30 min | 35 min | 40 min | 45 min | 50 min |
| Ex vivo | NCHN (Gr.1) | 3,1 | 3,5 | 4,9 | 7,7 | 10,5 | 12,4 | 14,0 | 15,1 | 16,8 | 17,7 | 19,0 | 19,9,0 |
| | Błoto pośniegowe (Gr.2) | 3,1 | 3,6 | 5,5 | 8,2 | 11,2 | 13,9 | 16,2 | 18,4 | 20,1 | 22,4 | 24,4 | 26,1 |
| | Brak chłodzenia (Gr.3) | 3,8 | 4,7 | 7,7 | 11,2 | 14,6 | 17,6 | 19,9 | 21,8 | 23,5 | 24,6 | 25,8 | 27,0 |
| In vivo na modelu zwierzęcym | CHO | 6,1 | 6,8 | 7,4 | 7,9 | 8,2 | 8,7 | 9,1 | 9,5 | 9,9 | 10,2 | 10,5 | 10,8 |
| | CHR | 6,6 | 7,3 | 8,3 | 9,4 | 12,3 | 13,7 | 14,5 | 15,0 | 15,1 | 15,0 | 15,0 | 14,9 |
| In vivo na modelu ludzkim | CHO | 10,0 | 10,9 | 13,0 | 14,8 | 15,9 | 16,5 | 17,0 | 17,5 | 18,2 | 18,5 | 18,7 | 18,9 |
| | CHR | 10,9 | 13,0 | 18,0 | 20,0 | 19,8 | 20,0 | 19,7 | 19,9 | 19,8 | 19,7 | 19,8 | 20,0 |

7.5. Wnioski.

Zgodnie z literaturą przedmiotu [Rozdział I ÷ Rozdział III] wymagana temperatura narządu gwarantująca optymalną ochronę transplantu podczas zabiegu transplantacji powinna wynosić poniżej 20 °C. **W przeprowadzonych badaniach ex vivo udowodniono, iż urządzenie chłodzące ma zdolność utrzymania niskiej temperatury transplantu przez 60 minut.** Wykazano znaczącą różnicę w rozkładzie temperatury nerki z użyciem NCHN a brakiem chłodzenia narządu w symulacji operacji transplantacji. Określono minimalną objętość cieczy chłodzącej jaka wymagana jest do użycia i utrzymania rozkładu niskiej temperatury transplantu. Zalecane jest użycie 1000 ml płynu chłodzącego krążącego w obiegu zamkniętym. Wydajność chłodzenia Nakładki Chłodzącej Nerkę (NCHN) sprawdzono w warunkach klinicznych. Badania przedkliniczne potwierdziły możliwość utrzymania niskiej temperatury transplantu z użyciem NCH. Testy przedkliniczne przeprowadzono z użyciem technik chirurgii otwartej jak i robotycznej. Przeprowadzone badania nie są pozbawione ograniczeń. Badania *ex vivo* i *in vivo* przeprowadzono po separacji wieprzowych nerek z organizmu zwierzęcia, co przekłada się na brak informacji o kondycji anatomicznej narządu. Badanie kliniczne obejmowało małą grupę badawczą. Planuje się przeprowadzenie badania klinicznego na szerszej grupie badawczej z wykorzystaniem NCHN. Dodatkowo planuje się włączenie do populacji badawczej nerek pochodzących od zmarłych dawców oraz zbadanie nakładki chłodzącej w przeszczepach wielonaczyniowych. Zastosowanie NCHN w połączeniu z zaawansowanymi technologiami operacji transplantacji pozwoli wykorzystać zalety technik małoinwazyjnych i robotów o wysokiej wydajności technicznej, rozszerzając tym samym zakres sukcesów w transplantacji zarówno w operacjach otwartych jak i w chirurgii robotycznej. Opracowane procedury medyczne będą jednocześnie bezpieczniejsze.

ROZDZIAŁ VIII

VIII. Podsumowanie i wnioski dotyczące dalszych badań

Celem pracy było opracowanie projektu urządzenia chłodzącego narządy w trakcie procedury przeszczepu wsparte badaniami naukowymi, a także wykonanie prototypów tego urządzenia i przeprowadzenia jego walidacji. W pracy doktorskiej ograniczono się do urządzenia dedykowanego do ochrony narządu nerki przed tzw. drugim ciepłym niedokrwieniem. Zaprojektowane urządzenie nazwano Nakładką Chłodzącą Nerkę, NCHN.

W pracy prowadzono badania interdyscyplinarne, łącząc prace techniczne nad wykonaniem prototypów NCHN z wynikami eksperymentów biologicznych oraz wniosków wynikających z modelowania teoretyczno-numerycznego sprzężonych zagadnień termo-hydrodynamiki. W Rozdziale II i III przedstawiono wymagania techniczno-medyczne dotyczące projektu NCHN, a także omówiono istniejące podobne urządzenia. Ponieważ celem pracy było uzyskanie patentu na urządzenie, co oznaczało jego oryginalność i innowacyjność zapewniającą komercjalizację urządzenia przez firmę zatrudniającą autorkę rozprawy, ta wiedza była niezbędna do uzyskania skutecznych efektów pracy nad projektem. Szczegółowo pokazano etapy pracy nad projektem.

Druga część pracy doktorskiej, część naukowo-badawcza, składała się również z dwóch równoległych nurtów. Pierwszy nurt obejmował prace biologiczne, na ludzkich komórkach hodowanych *in vitro* i na narządach świńskiej nerki *ex vivo*. Wyniki tych badań potwierdziły po pierwsze, że utrzymywanie komórek w niskiej temperaturze oraz jej kontrolowany wzrost wpływa na wyższą przeżywalność komórek, Rozdział IV. Po drugie, badania wykorzystujące świńskie nerki *ex vivo*, pozwoliły na walidację skuteczności pracy wyprodukowanych prototypów urządzenia chłodzącego, Rozdział VII. Drugi nurt badań dotyczył modelowania numerycznego w programie COMSOL Multiphysics zagadnienia transportu ciepła przez przepływ płynu chłodzącego wewnątrz NCHN do opracowania ulepszonych modeli, dokładniej do określenia rozkładu przegród wewnętrznych rozbijających strumień cieczy chłodzącej, Rozdział V. Obliczenia pozwoliły na oszacowanie wystarczającej sprawności chłodzenia narządu w czasie operacji transplantacji. Walidacja modelu numerycznego przepływu cieczy chłodzącej przez skomplikowany system kanałów wewnątrz ścian nakładki została wykonana dzięki zastosowaniu pomiarów pola prędkości przepływu aparatem Dopplerowskim, 20 MHz wykonanym w IPPT PAN, Rozdział VI. Wykorzystanie badań przedstawionych w doktoracie do projektowania kształtu przestrzeni przepływu, skorelowanej z równomiernym chłodzeniem

powierzchni nerki w czasie transplantacji, przyczyniło się do opatentowania urządzenia. Zatwierdzono zgłoszenie patentowe w USA, w którym jednym z czterech autorów jest autorka tej rozprawy. Wartość użytkową w medycynie potwierdziło użycie NCHN i walidacja jego skuteczności w czasie zabiegu transplantacji *in vivo* wykonanej przez lekarza chirurga z Hiszpanii, który był także współautorem patentu, Rozdział VII.

Obecnie prowadzone są dalsze badania doświadczalne *in vivo* w szpitalu w Hiszpanii, którymi kieruje chirurg transplantolog, prof. A. Breda, współautor patentu. Badania te będą dalej prowadzone i mają na celu ewentualne rozszerzenie projektu na inne narządy takie, jak serce. Osiągnięty cel pracy jako doktoratu wdrożeniowego, czyli opracowanie konkretnego, przydatnego urządzenia, które można było opatentować, a także jego dalsze wykorzystywanie w praktyce medycznej pokazuje sens prowadzenia badań naukowych interdyscyplinarnych, łączących prace projektowe i naukowe.

Spis cytowanej literatury

[Bambi 2004] G. Bambi, T. Morganti, S. Ricci, E. Boni, F. Guidi, C. Palombo, P. Tortoli, A novel ultrasound instrument for investigation of arterial mechanics, *Ultrasonics* 42 (2004) 731-737. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041624X03002063>. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2003.11.008>, proceedings of Ultrasonics International 2003.

[Balbis 2004] S. Balbis, C. Guiot, R. Roatta, S and Arina, T. Todros, Assessment of the effect of vessel curvature on doppler measurements in steady flow., *Ultrasound in medicine biology* 30 (2004) 639{645. doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2004.02.006.

[Beisang 1986] Beisang III, A.A., Ersek R.A, Beisang A.A., patent amerykański, US 4 596 250, Czerwiec 24, 1986.

[Bellini 2019] Bellini MI, D'Andrea V. Organ preservation: which temperature for which organ? *J IntMed Res.* 2019 Jun;47(6):2323-2325. doi: 10.1177/0300060519833889. PMID: 31172863; PMCID: PMC6567729.

[Benak 1991] Benak A.M., Villamater J.V., patent amerykański, US 5 014 695, Maj 14, 1991.

[Carrel 1938] Alexis Carrel, Charles A. Lindbergh, The culture of organs, publisher: P.B. Hoeber, Inc., New York 1938

[Cervantes 2013] Cervantes, Thomas M et al. "Evaluation of a minimally invasive renal cooling device using heat transfer analysis and an in vivo porcine model." *Medical engineering & physics* vol. 35,6 (2013): 736-42. doi:10.1016/j.medengphy.2012.08.001

[Chao 2021] Chao Tan, Feng Dong, *Sensor Instrumentation for Flow Measurement, Reference Module in Biomedical Sciences*, Elsevier, 2021, ISBN 9780128012383, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822548-6.00074-1>.

[Chao 2021] Chao Tan, Feng Dong, *Sensor Instrumentation for Flow Measurement, Reference Module in Biomedical Sciences*, Elsevier, 2021, ISBN 9780128012383, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822548-6.00074-1>.

[Colechin 2008] Colechin, E S et al. "Laparoscopic renal cooling device." *Medical & biological engineering & computing* vol. 46,12 (2008): 1219-25. doi:10.1007/s11517-008-0378-z

- [Cox 1992] Cox J.L., Jaquiss R.D.B., patent amerykański, US 5 150 706, Sierpień 29, 1992.
- [Daily 1979] Daily P.O., patent amerykański, US 4 154 245, Maj 15, 1979.
- [Desgrandchamps 1997] Desgrandchamps F., Eugene M., Girrens N., Muller F., Spaniol S, patent amerykański, US 5 701 746, Grudzień 30, 1997.
- [Dorfman 1952] Dorfman J.J., patent amerykański, USD 167 743, Wrzesień 16, 1952.
- [Ediriweera 2019] Ediriweera, Meran Keshawa et al. "In vitro assays and techniques utilized in anticancer drug discovery." *Journal of applied toxicology : JAT* vol. 39,1 (2019): 38-71. doi:10.1002/jat.3658.
- [EN 62366-1] PN-EN 62366-1:2015-07 Wyroby medyczne -- Część 1: Zastosowanie inżynierii użyteczności do wyrobów medycznych, 29-07-2015, <https://sklep.pkn.pl/pn-en-62366-1-2015-07e.html>.
- [Fernandez 2020] Fernández AR, Sánchez-Tarjuelo R, Cravedi P, Ochando J, López-Hoyos M. Review: Ischemia Reperfusion Injury-A Translational Perspective in Organ Transplantation. *Int J Mol Sci.* 2020;21(22):8549. Published 2020 Nov 13. doi:10.3390/ijms21228549
- [Fontenot 1994] Fontenot M.G, Miller T.G, patent amerykański, US 5 344 436, Wrzesień 6, 1994.
- [Galluzzi 2018] Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S. et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ* 25, 486–541 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0012-4>
- [Gammons 1979] Gammons C.E., Moore F.C., Perkinson L.R., patent amerykański, US 4 149 541, Kwiecień 17, 1979.
- [Gilbo 2017] Gilbo N, Monbaliu D. Temperature and oxygenation during organ preservation: friends or foes?. *Curr Opin Organ Transplant.* 2017;22(3):290-299. doi:10.1097/MOT.0000000000000416
- [Han 2012] Han, Xiuwu et al. "Comparison of 2 devices in pigs to induce hypothermia in laparoscopic orthotopic kidney transplant." *Experimental and clinical transplantation : official*

journal of the Middle East Society for Organ Transplantation vol. 10,6 (2012): 573-8.
doi:10.6002/ect.2012.0005

[Hassell 1933] Hassell C.S., patent amerykański, US 1 896 953, Luty 7, 1933.

[Herbert 1998] Herbert H.N., Montenegro E., patent amerykański, US 5 806 335, Wrzesień 15, 1998.

[Hood 1981] Hood A.G., patent amerykański, US 4 259 961, Kwiecień 7, 1981.

[ISO 10993-1] PN-EN ISO 10993-1:2021-06 Biologiczna ocena wyrobów medycznych -- Część 1: Ocena i badanie w procesie zarządzania ryzykiem, 01-06-2021, <https://sklep.pkn.pl/pn-en-iso-10993-1-2021-06e.html>.

[ISO 13485] PN-EN ISO 13485:2016-04 Wyroby medyczne -- Systemy zarządzania jakością -- Wymagania do celów przepisów prawnych, 22-04-2016, <https://sklep.pkn.pl/pn-en-iso-13485-2016-04e.html>.

[ISO 14155] PN-EN ISO 14155:2021-02 Badania kliniczne wyrobów medycznych na ludziach -- Dobra praktyka kliniczna, 04-02-2021, <https://sklep.pkn.pl/pn-en-iso-14155-2021-02e.html>.

[ISO 14971] PN-EN ISO 14971:2020-05 Wyroby medyczne -- Zastosowanie zarządzania ryzykiem do wyrobów medycznych, 25-05-2020, <https://sklep.pkn.pl/pn-en-iso-14971-2020-05e.html>.

[Jacques 1986] Jacques R.C., patent amerykański, US 4 605 006, Sierpień 12, 1986.

[Johnson 1963] Johnson A.L., Inglewood Jr., Wister R.B., patent amerykański, US 3 091 242, Maj 28, 1963.

[Kamińska 2016] Kamińska, D., Kościelska-Kasprzak, K., Chudoba, P. et al. The influence of warm ischemia elimination on kidney injury during transplantation – clinical and molecular study. *Scientific Reports* 6, 36118 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep36118>

[Kanduc 2002] Kanduc, D., Mittelman, A., Serpico, R., Sinigaglia, E., Sinha, A.A., Natale, C. ... Farber, E. (2002). Cell death: Apoptosis versus necrosis (Review). *International Journal of Oncology*, 21, 165-170. <https://doi.org/10.3892/ijo.21.1.165>

[Kelly 1995] Kelly K.A oraz Szpur R., patent amerykański, US 5 383 919, Styczeń 24, 1995.

[Khan 2021] Khan, Turaab et al. "Protection From the Second Warm Ischemic Injury in Kidney Transplantation Using an Ex Vivo Porcine Model and Thermally Insulating Jackets." *Transplantation proceedings* vol. 53,2 (2021): 750-754. doi:10.1016/j.transproceed.2021.01.037

[Korczak 2018] Korczak I., Gambin B., Kruglenko E., Stabilizacja temperatury organu podczas zabiegu transplantacji, *Aktualności Inżynierii Akustycznej i Biomedycznej*, Polskie Towarzystwo Akustyczne, Oddział w Krakowie, I, pp.97-103, 2018.

[Logchamp 2019] Longchamp, Alban et al. "Impact of an intra-abdominal cooling device during open kidney transplantation in pigs." *Swiss medical weekly* vol. 149 w20143. 23 Dec. 2019, doi:10.4414/smw.2019.20143

[Mahawili 1996] Mahawili I., patent amerykański, US 5 486 207, Styczeń 23,1996.

[MDR 2017/745] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2017/745 z dnia 5 kwietnia 2017 r. w sprawie wyrobów medycznych, zmiany dyrektywy 2001/83/WE, rozporządzenia (WE) nr 178/2002 i rozporządzenia (WE) nr 1223/2009 oraz uchylenia dyrektyw Rady 90/385/EWG i 93/42/EWG, <http://data.europa.eu/eli/reg/2017/745/2020-04-24>.

[Meier 2018] Meier, R P H et al. "Intra-Abdominal Cooling System Limits Ischemia-Reperfusion Injury During Robot-Assisted Renal Transplantation." *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* vol. 18,1 (2018): 53-62. doi:10.1111/ajt.14399

[Montgomery 2004] Montgomery R.A., patent amerykański, US 6 736 836 B2, Maj 18, 2004.

[Nowicki 2016] Nowicki A., *ULTRASONOGRAFIA Wprowadzenie do obrazowania i metod dopplerowskich*, Wydawnictwo Instytutu Podstawowych Problemów Techniki, PAN, Warszawa, pp.1-517, 2016

[Nowicki 2018] Nowicki A., Trawiński Z.*, Gambin B., Secomski W., Szubielski M.*, Parol M.*, Olszewski R., 20-MHZ ultrasound for measurements of flow-mediated dilation and shear rate in the radial artery, *ULTRASOUND IN MEDICINE AND BIOLOGY*, ISSN: 0301-5629, DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2018.02.011, Vol.44, No.6, pp.1187-1197, 2018

- [Nowicki 2019] Nowicki A., Gambin B., Secomski W., Trawiński Z.*, Szubielski M.*, Tymkiewicz R., Olszewski R.*, Assessment of high frequency imaging and Doppler system for the measurements of the radial artery flow-mediated dilation, ARCHIVES OF ACOUSTICS, ISSN: 0137-5075, DOI: 10.24425/aoa.2019.129276, Vol.44, No.4, pp.637-644, 2019
- [Owens 1980] Owens M.L., patent amerykański, US 4 217 890, Sierpień 19, 1980.
- [Pupka 2009] Pupka A., Chudoba P., patent polski, PL 201 872, Maj 29,2009.
- [Rubinsky 2003] Rubinsky, B. Principles of Low Temperature Cell Preservation. HeartFailRev 8, 277–284 (2003). <https://doi.org/10.1023/A:1024734003814>
- [Seacord 1990] Seacord A.R., patent amerykański, US 4 971 056, Listopad 20, 1990.
- [Stenberg 1977] Stenberg K., patent amerykański, US 4 010 795, Marzec 8, 1977.
- [Tan 2016] Tan, C., Yuan, Y., Dong, X., & Dong, F. (2016). Oil–water two-phase flow measurement with combined ultrasonic transducer and electrical sensors. Measurement Science and Technology, 27(12), 125307.
- [Tan 2016] Tan, C., Yuan, Y., Dong, X., & Dong, F. (2016). Oil–water two-phase flow measurement with combined ultrasonic transducer and electrical sensors. Measurement Science and Technology, 27(12), 125307.
- [Tejchman 2021] Tejchman K, Nowacki A, Kotfis K, et al. The Role of Endothelins, IL-18, and NGAL in Kidney Hypothermic Machine Perfusion. Biomedicines. 2021;9(4):417. Published 2021 Apr 13. doi:10.3390/biomedicines9040417
- [Territo 2021] Territo A, Piana A, Fontana M, Diana P, Gallioli A, Gaya JM, Huguet J, Gavrilov P, Rodríguez-Faba Ó, Facundo C, Guirado L, Palou J, Mottrie A, Breda A. Step-by-step Development of a Cold Ischemia Device for Open and Robotic-assisted Renal Transplantation. Eur Urol. 2021 May 28:S0302-2838(21)01795-4. doi: 10.1016/j.eururo.2021.05.026. Epub ahead of print. PMID: 34059396
- [Thomas 2010] Thomas J., Japa S., Bianco M., Hsu T., patent amerykański, US 7 780 712B2, Sierpień 24, 2010.

[Torai 2019] Torai, Shinji et al. "Reduction of Warm Ischemia Using a Thermal Barrier Bag in Kidney Transplantation: Study in a Pig Model." *Transplantation proceedings* vol. 51,5 (2019): 1442-1450. doi:10.1016/j.transproceed.2019.01.136

[Vrzalik 2002] Vrzalik J.H., Lina C.Z., patent amerykański, US 6 371 976B1, Kwiecień 16, 2002.

[Winchell 1984] Winchell, D.A., patent amerykański, US 4 474 016, Październik 2, 1984.

Spis Rysunków

| | |
|--|----|
| Rysunek I.1. Schemat rozprawy doktorskiej..... | 18 |
| Rysunek II.1. Elektryczna czapka z lodem, Hassell 1933. | 21 |
| Rysunek II.2. Kombinacja grzewczo chłodzącej nakładki, Dorfman 1952. | 21 |
| Rysunek II.3. Aparatura do miejscowej hipotermii, Johnson 1963. | 22 |
| Rysunek II.4. Jednostka chłodząca, Stenberg 1977. | 22 |
| Rysunek II.5. Podkładka cyrkulacyjna płynu, Gammons 1979. | 22 |
| Rysunek II.6. Aparatura do miejscowej hipotermii, Daily 1979. | 22 |
| Rysunek II.7. Chusta chirurgiczna do pozycjonowania pobranej nerki podczas chirurgicznego ponownego mocowania, Owens 1980..... | 24 |
| Rysunek II.8. Nakładka chłodząca, Hood 1981. | 24 |
| Rysunek II.9. Sterylny system chłodzenia, Winchell 1984..... | 25 |
| Rysunek II.10. Formowalne urządzenie chłodząco-grzewcze z kierunkowym chłodzeniem/ogrzewaniem, Beisang 1986. | 25 |
| Rysunek II.11. Podkładka hipotermiczna, Jacques 1986. | 27 |
| Rysunek II.12. Nakładka chłodząca w kształcie łuku, Seacord 1990. | 27 |
| Rysunek II.13. Nakładka chłodząca nerkę, Benak 1991. | 29 |
| Rysunek II.14. Siatka chłodząca do zabiegów kardiochirurgicznych lub transplantacyjnych, Cox 1992. | 30 |
| Rysunek II.15. Nakładka termiczna do przenośnego systemu ogrzewania/chłodzenia ciała i sposób użycia, Mahawili 1996. | 32 |
| Rysunek II.16. Metoda przechowywania przeszczepu w zimnej lodówce, Desgrandchamps 1997..... | 32 |
| Rysunek II.17. Urządzenie do terapii zimnem, Herbert 1998..... | 33 |
| Rysunek II.18. Kontrola temperatury ciała do stosowania jako wsparcie pacjenta, Vrzalik 2002..... | 33 |
| Rysunek II.19. Zewnętrzny system chłodzenia przeszczepianych narządów, Montgomery 2004..... | 34 |
| Rysunek II.20. Laparoskopowe urządzenie do chłodzenia nerek, Thomas 2010. | 35 |
| Rysunek II.21. Sposób konserwacji przeszczepianych narządów mięsnych oraz pojemnik do konserwacji przeszczepianych narządów mięsnych, Pupka 2009. | 37 |
| Rysunek II.22. Laparoskopowa torba chłodząca, Colechin 2008. | 38 |

| | |
|--|----|
| Rysunek II.23. Klatka w postaci silikonowych rurek oraz plastikowa torebka na nerkę, Han 2012. | 39 |
| Rysunek II.24. Ochładzacz nerki, Cervantes 2013. | 40 |
| Rysunek II.25. Urządzenie chłodzące, Logchamp 2019. | 41 |
| Rysunek II.26. Torba termoizolacyjna (=Thermal Barrier Bag - TBB)..... | 42 |
| Rysunek II.27. Nakładka izolacyjna wykonana z silikonu (biała), nakładka izolacyjna wykonana z poliuretanu (żółta), Khan 2021. | 42 |
| Rysunek III.1. Model 3D nerki o wymiarach A) 9 cm x 5 cm x 3 cm oraz B) wymiarach 11 cm x 7 cm x 4 cm. | 52 |
| Rysunek III.2. Rysunek płaski NCH wraz z opisem elementów dodatkowych i tabelą przedstawiającą główne rozmiary nakładek. | 54 |
| Rysunek III.3. Przestrzenna wizualizacja nakładki chłodzącej..... | 54 |
| Rysunek III.4. Projekt 3D nakładki chłodzącej. A) Rzut z góry, B) rzut z dołu, C) rzut z przodu, D) rzut z tyłu, E) -F) rzut z boków, G) przekrój między zgrzanymi warstwami nakładki..... | 55 |
| Rysunek III.5. Rysunek techniczny nakładki chłodzącej w rozmiarze L. | 58 |
| Rysunek III.6. Rysunek wykonawczy elektrody nakładki chłodzącej w rozmiarze L..... | 58 |
| Rysunek III.7. Rysunek techniczny nakładki chłodzącej w rozmiarze S..... | 59 |
| Rysunek III.8. Rysunek wykonawczy elektrody nakładki chłodzącej w rozmiarze S..... | 59 |
| Rysunek III.9. Rysunek techniczny nakładki chłodzącej w rozmiarze M. | 60 |
| Rysunek III.10. Rysunek wykonawczy elektrody nakładki chłodzącej w rozmiarze M | 60 |
| Rysunek III.11. Forma NCHN do zgrzewania prądami wysokiej częstotliwości..... | 61 |
| Rysunek III.12. Układ połączenia zestawu chłodzącego. | 63 |
| Rysunek V.1. Zaimportowany model nakładki w rozmiarze S..... | 80 |
| Rysunek V.2. Domena modelu. | 80 |
| Rysunek V.3. Schematyczne oznaczenie warunków brzegowych..... | 82 |
| Rysunek V.4. Siatka numeryczna nałożona na model NCHN. | 83 |
| Rysunek V.5. Wynik symulacji numerycznej 2D i 3D. | 84 |
| Rysunek V.6. Przekrój 2D poprzeczny i podłużny nerki oraz model 3D nerki. | 86 |
| Rysunek V.7. Interakcja NCH a nerka, model 3D. | 87 |
| Rysunek V.8. Symulacje numeryczne wykonane przed zaprojektowaniem finalnej wersji NCHN..... | 89 |
| Rysunek V.9. Nakładka chłodząca w rozmiarze S, rozkład prędkości oraz rozkład temperatury..... | 89 |

| | |
|--|-----|
| Rysunek V.10. NCH z całkowitym rozkładem zgrzewów w postaci liter "T". Oznaczenie S1. | 90 |
| Rysunek V.11. Ocena martwych obszarów w NCH S1. | 90 |
| Rysunek V.12. Ocena prędkości przepływu w NCH S1. | 90 |
| Rysunek V.13. NCH z usuniętymi 4 zgrzewami w postaci liter "T" na wpływie i wypływie cieczy z nakładki oraz na łączeniu między częściami nakładki. Oznaczenie S2. | 91 |
| Rysunek V.14. Ocena martwych obszarów w NCH S2. | 91 |
| Rysunek V.15. Ocena prędkości przepływu w NCH S2. | 91 |
| Rysunek V.16. NCH z usuniętymi 4 zgrzewami w postaci liter "T" we wnętrzu nakładki. Oznaczenie S3. | 92 |
| Rysunek V.17. Ocena martwych obszarów w NCH S3. | 92 |
| Rysunek V.18. Ocena prędkości przepływu w NCH S3. | 92 |
| Rysunek V.19. NCH bez zgrzewów w postaci liter "T". Oznaczenie S4. | 93 |
| Rysunek V.20. Ocena martwych obszarów w NCH S4. | 93 |
| Rysunek V.21. Ocena prędkości przepływu w NCH S4. | 93 |
| Rysunek V.22. Przybliżony rozkład temperatury nerki. | 94 |
| Rysunek V.23. Rozkład temperatury w nerce podczas CHO (lewa) oraz w CHR (prawa) grafika. | 95 |
| Rysunek V.24. Schematyczne oznaczenie 6 punktów pomiarowych rozkładu temperatury. ... | 95 |
| Rysunek V.25. Symulacja 3D interakcji NCH z nerką dla CHO (lewa) oraz CHR (prawa) grafika. | 97 |
| Rysunek V.26. Symulacja 3D interakcji NCH z nerką dla CHO (lewa) oraz CHR (prawa) grafika w przekroju płaszczyzny YZ. | 97 |
| Rysunek VI.1. Pomiar przepływu z zaznaczeniem kąta θ w rurze oraz konfiguracja geometryczna pomiaru w NCHN. | 103 |
| Rysunek VI.2. Układ pomiarowy z wykorzystaniem ultradźwiękowego przepływomierza Dopplerskiego. | 103 |
| Rysunek VI.3. Obraz na ekranie monitora podczas rejestracji sygnału Dopplera. a. Pole do ustawienia parametrów akwizycji: częstotliwość powtarzania fPRF, częstotliwość próbkiowania f_s , przepustowość i współczynnik wzmocnienia. b. Profil przepływu skonstruowany ze 128 widm FFT sygnału Dopplera; linia pozioma oznacza pozycję bramki, z której widmo jest wyświetlane w polu c. c. Widmo częstotliwości sygnału Dopplera w funkcji czasu. | 104 |

| | |
|---|-----|
| Rysunek VI.4. Zarejestrowane widma Dopplera w 128 bramkach. a. Profil przepływu chwilowego zbudowany ze 128 widm FFT sygnału Dopplera. b. Pozycja bramki (4,5 mm), z której wyświetlane jest widmo w polu c. c. Widmo częstotliwości sygnału Dopplera w funkcji czasu..... | 105 |
| Rysunek VI.5. Obraz na ekranie monitora podczas obliczania profilu przepływu. a. Profil szczytowej prędkości przepływu skonstruowany na podstawie 128 widm FFT sygnału Dopplera. b. Średni profil prędkości przepływu uśredniony w czasie i częstotliwości. c. Średnia prędkość uśredniona w całym naczyniu i obliczona ze wzoru (1) przy założeniu częstotliwości $f = 20$ MHz i kąta $\theta = 67^\circ$ oraz obliczonej średniej prędkości $\vartheta = 0,16$ m/s. | 105 |
| Rysunek VI.6. Ultradźwiękowy obraz NCHN w trybie B i mapa przepływu w kolorowym Dopplerze w pobliżu wpływu, na lewo. Kierunek fali ultradźwiękowej zaznaczony czerwoną linią. Kąt pomiędzy kierunkiem wiązki i kierunkiem przepływu 60° , na prawo na dole. a) Profil przepływu szczytowej prędkości skonstruowany ze 128 widm FFT (Fast Fourier Transform, szybka transformata Fouriera) sygnału Dopplera i b) profil przepływu średniej prędkości uśredniony w czasie i częstotliwościach z całego widma. Średnia prędkość około 16 cm/s. | 106 |
| Rysunek VI.7. Rysunek techniczny 2D kształtu nakładek, który był użyty do zbudowania geometrii 2D w programie COMSOL..... | 107 |
| Rysunek VI.8. NCHN z zaznaczonymi punktami pomiarowymi, a) schemat 3D NCHN, b) numeracja punktów pomiarowych na tle numerycznej prognozy prędkości przepływu, c) punkty pomiarowe zaznaczone na prototypie S NCHN..... | 108 |
| Rysunek VI.9. Obliczenia MES prędkości przepływu i rozkładu temperatury. | 110 |
| Rysunek VI.10 Rozkład ciśnienia przepływu w NCHN. | 110 |
| Rysunek VI.11. Pole prędkości i jego składowe x i y, czyli pozioma i pionowa. | 111 |
| Rysunek VI.12. Przykład obliczenia średniej prędkości z modelu MES poprzez użycie kilku profili prędkości oraz obrazy profili otrzymane z pomiarów Dopplerem wokół punktu nr 3. | 113 |
| Rysunek VI.13. Wykresy pudełkowe wartości globalnych prędkości pomierzonych i przewidywanych przez model numeryczny. | 114 |
| Rysunek VI.14. Wykresy pudełkowe globalnych wartości prędkości pomierzonych i przewidywanych przez model numeryczny po usunięciu elementu „odstającego”..... | 114 |
| Rysunek VII.1. Stanowisko doświadczalne ex vivo. | 119 |
| Rysunek VII.2. Schematyczne rozmieszczenie termopar w nerce..... | 119 |
| Rysunek VII.3. Stanowisko badawcze dla doświadczenia Wariant nr 0. | 121 |

| | |
|---|-----|
| Rysunek VII.4. Stanowisko badawcze..... | 122 |
| Rysunek VII.5. Stanowisko badawcze dla doświadczenia Wariant nr 2 i Wariant nr 3..... | 123 |
| Rysunek VII.6. Stanowisko badawcze dla doświadczenia Wariant nr 4 i Wariant nr 5..... | 124 |
| Rysunek VII.7. A. NCHN wypełniona zabarwionym płynem, B. Testy in vivo na zwierzęcym modelu, Testy in vivo z udziałem ludzi w C. CHO i D. CHR. | 128 |

Spis Tabel

| | |
|---|-----|
| Tabela IV.1. Lista i skład stosowanych buforów. | 69 |
| Tabela IV.2 Procent [%] przeżywalności komórek w dwóch wariantach termicznych..... | 70 |
| Tabela IV.3. Opis wariantu termicznego..... | 71 |
| Tabela IV.4. Globalna ocena przeżywalności komórek L929 w różnych wariantach termicznych. | 74 |
| Tabela IV.5. Globalna ocena przeżywalności komórek HEK-293 w różnych wariantach termicznych. | 74 |
| Tabela IV.6. Globalna ocena przeżywalności komórek Caki1 w różnych wariantach termicznych. | 75 |
| Tabela V.1. Warunki początkowe dla sprzężonego zadania w programie COMSOL -Multiphysics..... | 82 |
| Tabela V.2. Parametry modelu i warunki brzegowe dla sprzężonego zadania w programie COMSOL -Multiphysics. | 82 |
| Tabela V.3. Właściwości termiczne materiałów. | 85 |
| Tabela V.4 Warunki początkowe i brzegowe dla symulacji interakcji NCH a nerka..... | 85 |
| Tabela V.5. Zbiór wyników optymalizacji kształtu NCHN. | 93 |
| Tabela VI.1. Wartości średnie pola prędkości w 19 punktach pomiarowych. W wierszach kolejno wyniki pomiarów – „exp”, wyniki modelowania numerycznego – „num” oraz ‘error’ błąd procentowy względnej różnicy pomiędzy pomiarem i predykcją modelu numerycznego – „% error” | 112 |
| Tabela VII.1. Warianty termiczne dla walidacji urządzenia medycznego. | 120 |
| Tabela VII.2. Wzrost temperatury nerki i jej najbliższego otoczenia dla sześciu wariantów przeprowadzonych pomiarów. | 126 |
| Tabela VII.3. Rozkład temperatury nerki podczas testów walidacji NCHN w różnych warunkach operacji..... | 128 |

Spis Wykresów

| | |
|---|-----|
| Wykres IV.1. Średnia wartość przeżywalności komórek linii L929 w zróżnicowanym reżimie temperaturowym..... | 72 |
| Wykres IV.2. Średnia wartość przeżywalności komórek linii Caki 1(wykres po lewej) oraz HEK-293 (wykres po prawej) w zróżnicowanym reżimie temperaturowym..... | 72 |
| Wykres IV.3. Średnie wartości absorbancji w teście MTT dla komórek L929 po 24 h hodowli po ekspozycji na różne warunki temperatury..... | 76 |
| Wykres V.1. Rozkład temperatury nerki w 6 punktach pomiarowych w czasie 60 min w CHO. Warunek brzegowy na górnej powierzchni nerki równy T3, warunek brzegowy na dolnej powierzchni nerki równy T2, chłodzenie nerki T3. | 95 |
| Wykres V.2. Rozkład temperatury nerki w 6 punktach pomiarowych w czasie 60 min w CHR. Warunek brzegowy na górnej powierzchni nerki równy T2, warunek brzegowy na dolnej powierzchni nerki równy T2, chłodzenie nerki T3. Wykres z lewej ilustrujący T2 równe 36 °C, z prawej wykres ilustrujący T2 równe 30 °C..... | 96 |
| Wykres VII.1. Rozkład temperatury w nerce dla doświadczenia wariant 0 w czasie 60 minut. | 121 |
| Wykres VII.2. Temperatury w nerce dla doświadczenia wariant 0 w czasie 30 minut. | 121 |
| Wykres VII.3. Wzrostu temperatury dla doświadczenia Wariant nr 1. | 122 |
| Wykres VII.4. Wzrost temperatury dla doświadczenia Wariant nr 2 oraz Wariant nr 3. | 123 |
| Wykres VII.5 Wzrost temperatury dla doświadczenia Wariant nr 4 oraz Wariant nr 5. | 124 |
| Wykres VII.6. Wzrost temperatury dla doświadczenia Wariant nr 6. | 124 |

Załącznik

Zgłoszenie patentowe: Korczak-Cegielska I., Breda A., Decewicz A., Brodaczewski K.,
Kidney cooling system, US 63/146,656. Luty 7, 2021.



UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE
United States Patent and Trademark Office
Address: COMMISSIONER FOR PATENTS
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450
www.uspto.gov

| APPLICATION NUMBER | FILING or 371(c) DATE | GRP PART UNIT | FIL FEE RECD | ATTY DOCKET NO | TOT CLAIMS | IND CLAIMS |
|--------------------|-----------------------|---------------|--------------|----------------|------------|------------|
| 63/146,656 | 02/07/2021 | | 150 | | | |

28143
NATTER & NATTER
501 FIFTH AVENUE
NEW YORK, NY 10017

CONFIRMATION NO. 7918
FILING RECEIPT



Date Mailed: 02/12/2021

Receipt is acknowledged of this provisional patent application. It will not be examined for patentability and will become abandoned not later than twelve months after its filing date. Any correspondence concerning the application must include the following identification information: the U.S. APPLICATION NUMBER, FILING DATE, NAME OF FIRST INVENTOR, and TITLE OF INVENTION. Fees transmitted by check or draft are subject to collection.

Please verify the accuracy of the data presented on this receipt. If an error is noted on this Filing Receipt, please submit a written request for a corrected Filing Receipt identifying the requested changes, preferably by including a properly marked-up ADS showing the changes with strike-through for deletions and underlining for additions. If you received a "Notice to File Missing Parts" or other Notice requiring a response for this application, please submit any request for correction to this Filing Receipt with your reply to the Notice. When the USPTO processes the reply to the Notice, the USPTO will generate another Filing Receipt incorporating the requested corrections provided that the request is grantable.

Inventor(s)

Ilona Korczak-Cegielska, Warsaw, POLAND;
Alberto Breda, Barcelona, SPAIN;
Andrzej Decewicz, Nottingham, UNITED KINGDOM;
Konrad Brodaczewski, Dublin, IRELAND;

Applicant(s)

Grena USA LLC, Wilmington, DE;

Power of Attorney:

Seth Natter--25122

Permission to Access Application via Priority Document Exchange: Yes

Permission to Access Search Results: Yes

Applicant may provide or rescind an authorization for access using Form PTO/SB/39 or Form PTO/SB/69 as appropriate.

If Required, Foreign Filing License Granted: 02/12/2021

The country code and number of your priority application, to be used for filing abroad under the Paris Convention, is **US 63/146,656**

Projected Publication Date: None, application is not eligible for pre-grant publication

Non-Publication Request: No

Early Publication Request: No

**** SMALL ENTITY ****

Title

KIDNEY COOLING SYSTEM

Statement under 37 CFR 1.55 or 1.78 for AIA (First Inventor to File) Transition Applications: No

PROTECTING YOUR INVENTION OUTSIDE THE UNITED STATES

Since the rights granted by a U.S. patent extend only throughout the territory of the United States and have no effect in a foreign country, an inventor who wishes patent protection in another country must apply for a patent in a specific country or in regional patent offices. Applicants may wish to consider the filing of an international application under the Patent Cooperation Treaty (PCT). An international (PCT) application generally has the same effect as a regular national patent application in each PCT-member country. The PCT process **simplifies** the filing of patent applications on the same invention in member countries, but **does not result** in a grant of "an international patent" and does not eliminate the need of applicants to file additional documents and fees in countries where patent protection is desired.

Almost every country has its own patent law, and a person desiring a patent in a particular country must make an application for patent in that country in accordance with its particular laws. Since the laws of many countries differ in various respects from the patent law of the United States, applicants are advised to seek guidance from specific foreign countries to ensure that patent rights are not lost prematurely.

Applicants also are advised that in the case of inventions made in the United States, the Director of the USPTO must issue a license before applicants can apply for a patent in a foreign country. The filing of a U.S. patent application serves as a request for a foreign filing license. The application's filing receipt contains further information and guidance as to the status of applicant's license for foreign filing.

Applicants may wish to consult the USPTO booklet, "General Information Concerning Patents" (specifically, the section entitled "Treaties and Foreign Patents") for more information on timeframes and deadlines for filing foreign patent applications. The guide is available either by contacting the USPTO Contact Center at 800-786-9199, or it can be viewed on the USPTO website at <http://www.uspto.gov/web/offices/pac/doc/general/index.html>.

For information on preventing theft of your intellectual property (patents, trademarks and copyrights), you may wish to consult the U.S. Government website, <http://www.stopfakes.gov>. Part of a Department of Commerce initiative, this website includes self-help "toolkits" giving innovators guidance on how to protect intellectual property in specific countries such as China, Korea and Mexico. For questions regarding patent enforcement issues, applicants may call the U.S. Government hotline at 1-866-999-HALT (1-866-999-4258).

LICENSE FOR FOREIGN FILING UNDER

Title 35, United States Code, Section 184

Title 37, Code of Federal Regulations, 5.11 & 5.15

GRANTED

The applicant has been granted a license under 35 U.S.C. 184, if the phrase "IF REQUIRED, FOREIGN FILING LICENSE GRANTED" followed by a date appears on this form. Such licenses are issued in all applications where

the conditions for issuance of a license have been met, regardless of whether or not a license may be required as set forth in 37 CFR 5.15. The scope and limitations of this license are set forth in 37 CFR 5.15(a) unless an earlier license has been issued under 37 CFR 5.15(b). The license is subject to revocation upon written notification. The date indicated is the effective date of the license, unless an earlier license of similar scope has been granted under 37 CFR 5.13 or 5.14.

This license is to be retained by the licensee and may be used at any time on or after the effective date thereof unless it is revoked. This license is automatically transferred to any related applications(s) filed under 37 CFR 1.53(d). This license is not retroactive.

The grant of a license does not in any way lessen the responsibility of a licensee for the security of the subject matter as imposed by any Government contract or the provisions of existing laws relating to espionage and the national security or the export of technical data. Licensees should apprise themselves of current regulations especially with respect to certain countries, of other agencies, particularly the Office of Defense Trade Controls, Department of State (with respect to Arms, Munitions and Implements of War (22 CFR 121-128)); the Bureau of Industry and Security, Department of Commerce (15 CFR parts 730-774); the Office of Foreign Assets Control, Department of Treasury (31 CFR Parts 500+) and the Department of Energy.

NOT GRANTED

No license under 35 U.S.C. 184 has been granted at this time, if the phrase "IF REQUIRED, FOREIGN FILING LICENSE GRANTED" DOES NOT appear on this form. Applicant may still petition for a license under 37 CFR 5.12, if a license is desired before the expiration of 6 months from the filing date of the application. If 6 months has lapsed from the filing date of this application and the licensee has not received any indication of a secrecy order under 35 U.S.C. 181, the licensee may foreign file the application pursuant to 37 CFR 5.15(b).

SelectUSA

The United States represents the largest, most dynamic marketplace in the world and is an unparalleled location for business investment, innovation, and commercialization of new technologies. The U.S. offers tremendous resources and advantages for those who invest and manufacture goods here. Through SelectUSA, our nation works to promote and facilitate business investment. SelectUSA provides information assistance to the international investor community; serves as an ombudsman for existing and potential investors; advocates on behalf of U.S. cities, states, and regions competing for global investment; and counsels U.S. economic development organizations on investment attraction best practices. To learn more about why the United States is the best country in the world to develop technology, manufacture products, deliver services, and grow your business, visit <http://www.SelectUSA.gov> or call +1-202-482-6800.

PROVISIONAL APPLICATION FOR UNITED STATES LETTERS PATENT

Title of Invention: KIDNEY COOLING SYSTEM

Inventor: Ilona Korczak-Cegielska

Residence: Warsaw, PL

Inventor: Alberto Breda

Residence: Barcelona, ES

Inventor: Andrzej Decewicz

Residence: Nottingham, GB

Inventor: Konrad Brodaczewski

Residence: Dublin, IE

SUMMARY OF THE INVENTION

The present kidney cooling system aims to improve the conditions of organ hypothermia during the transplant surgery. Protection of the tissue against damage caused by ischemia depends on the appropriate cooling of the organ during the time from collection from the donor to the donation to the patient. A novel cooling system has been designed to maintain an even temperature distribution of the organ during surgery process. The modular cooling system consists of a heat exchanger, a reservoir with a cooling liquid (which is provided by hospitals in daily uses), cooling pads (cooling kidney jacket) and closed circuit tubing connecting all elements of cooling system with the pump. The coolant circulates in a closed system. The shape of the cooling pad is designed to similar shape of the anatomical kidney.

The entire volume of the transplant is covered by the cooling jacket. Due to the anatomical diversity, cooling jackets embodying the invention are configured

in various sizes. The sizes of the cooling jackets can differ in width, length and oval cutouts for blood vessels and ureter.

The present innovative design includes straps for closing the jacket and moving the jacket in the operating area during surgery.

The thickness of the cooling jacket has been designed to properly adhere to the organ and ensure heat transfer by conduction. The cooling jacket is made of two-layered biocompatible material. Coolant liquid flows between the two layers of jacket material.

The cooling kidney jacket consists of a series of channels that are filled with a cooling liquid. Cooling process takes place through cooling channels. Optimal cooling is assured by a system of channels formed between the two layers of biocompatible material. A suitable temperature distribution associated with the laminar flow is provided by a series of baffle welds which separate the two layers of the cooling pad to provide a plurality of flow paths.

The flow of cooling liquid between the halves of the jacket and the reservoir of cooling liquid is forced by an electric system (pump) or alternative positive flow mechanisms. The heat exchanger (bottle cooler sleeve) is adapted to various types of cooling liquid containers.

The cooling system of the present invention can be readily adapted for use with any available cooling liquid and the jacket may be configured for transplantation of other organs.

It should be noted that the kidney cooling jacket is designed to work with various heat exchangers. The employment of a cooling sleeve for the coolant reservoir is by way of example only and illustrative of only one of many ways to effect heat exchange. The reservoir with cooling liquid can be placed in a bottle cooler sleeve or in a heat insulating container filled with ice slush. Alternatively, the reservoir can be directly immersed in an ice container and then placed in a

heat insulating container or wrapped in a bottle cooler sleeve and then placed in a heat insulating container. Heat exchange can also be effected by a heat exchanger formed of panels or tubular coils immersed in a container of ice slush with the sterile cooling liquid flowing directly through the coils or between the panels. Heat exchanger systems such as mini chillers or Peltier thermoelectric modules may also be employed.

Innovation of our device:

- shape of cooling jacket dedicated to the transplant;
- an appropriate system of channels inside the jacket allows the free flow of liquid and eliminates “dead” areas of the flow;
- easy-to-apply, adapted to open and robotic surgery;
- possibility of using cooling jackets with various heat exchangers, e.g., bottle cooler sleeves, coils or panels immersed in ice slush, heat insulating containers filled with ice slush, mini chillers, Peltier thermoelectric modules and reservoirs of cooling liquid.

Description of the procedure:

Kidney transplantation is the preferred treatment for patients with end-stage chronic kidney disease. Open approach is the most popular method, but minimally invasive surgery becomes more popular, especially due to development of robotic devices. Minimally invasive procedures are a good alternative reducing the morbidity associated with the open approach. Shorter recovery time and the lower complication rate are basic advantages of minimally invasive surgery. Robotic approach facilitates precise vascular anastomosis and ureteral reimplantation.

Kidney taken from a donor for transplantation must be kept in a low temperature to assure graft survival. It is easy to maintain low temperature during kidney

transportation to the clinic where transplantation will take place, as organ can be transported in an ice-box. The big issue is to keep low graft temperature during surgery as it is surrounded by recipient’s organs with temperature around 38°C. Ice slush is commonly used to maintain low graft temperature – kidney is wrapped with multiple layers of gauze with ice slush between the layers. Disadvantage of this technique is that ice melts and temperature goes up. It is rather difficult to change gauze wrap during surgery and the only way to extend graft’s hypothermia time is to add ice slush directly to abdominal cavity. However ice slush may lead to development of local systemic hypothermia affecting bowels function – in particular, ileus may develop complications. According to the literature, the graft temperature should be kept below 20°C before graft revascularization.

Newly developed cooling device allows to maintain low temperature of the graft both during open and minimally invasive surgery with elimination of disadvantages of currently used methods based on ice slush. After taking out of a cold storage and standard preparation, the following procedural steps are to be performed:

1. graft is placed inside the cooling jacket,
2. kidney vessels and urether passes through oval opening of a jacket lid,
3. jacket lid is closed
4. in robotic surgery graft encapsulated in the jacket is introduced into the abdominal cavity through an incision where the gel point is placed in advance. Inlet and outlet tubes of the cooling jacket are passed through the gel point,
5. in open surgery graft encapsulated in the jacket is introduced into the abdominal cavity through a standard incision. Inlet and outlet tubes of the cooling jacket are passed through the same standard incision,

6. pre-cooled container or soft bag with sterile cooling liquid solution is encased in a suitable heat transfer sleeve (or any other type of heat exchanger is applied),
7. suitable tubing connects an outlet port of the cooling liquid container to the inlet port of the jacket. Cooling liquid flow is forced through the inlet tubing by a pump,
8. outflow tube connects the outlet port of the cooling jacket with an inlet port of the cooling liquid container or directly to the heat exchanger,
9. the peristaltic pump is then activated. Coolant fills cooling jacket. Soft walls of the jacket expand and perfectly adhere to the kidney surface to ensure optimal thermal energy transfer. Bottle cooler sleeve and/or container with a coolant can be replaced during procedure, if necessary,
10. oval opening on the lid of a cooling jacket allows convenient access to the renal hilum for performance of vascular anastomosis
11. vascular anastomosis (artery and vein) and urether reimplantation is performed according to standard transplantation procedure
12. after conclusion of vascular anastomosis and reperfusion of a kidney, the lid of the cooling jacket is cut and the jacket is removed

Above described procedure allows the graft to be maintained at a temperature far below 20°C for unlimited period of time and is more efficient than standard techniques based on the ice slush. Using this technique should prevent delayed graft function and increase graft survival rate. It also protects bowels from direct contact with destructive ice slush.

Additional advantage in robotic surgery is that unlike with gauze/ice slush techniques graft dimensions are not much increased by the cooling jacket as

perfusion with coolant starts after graft is introduced into abdominal cavity. It is important as gel point has limited diameter for insertion of the graft.

Both in minimally invasive and open procedures use of a cooling jacket does not need to change surgical techniques so learning curve is fast as needs proper installation of the cooling device only.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

FIG. 1 comprises an overall schematic diagram of the system components;

FIG 2 comprises a left side isometric view of the cooling jacket in accordance with the invention;

FIG. 3 comprises a right side isometric view of the cooling jacket in accordance with the invention;

FIG. 4 comprises a left side elevational view;

FIG. 5 comprises a right side elevational view;

FIG. 6 comprises an end elevational view taken from the right as oriented in FIG. 5;

FIG.7 comprises an enlarged scale sectional view taken through circle "B" of FIG.5 and through two layers of a panel forming the jacket and illustrating a "T" shaped weld which spaces the layers and provides a flow path for cooling liquid;

FIG. 8 comprises a bottom view; and

FIG. 9 comprises a plan view of an open jacket prior to assembly.

DETAILED DESCRIPTION

Referring now to FIG.1 it will be noted that the system comprises a closed circuit loop, including a kidney cooling jacket 10, a storage supply of cooling liquid 12 encased in a cooling sleeve 14 and an inflow tubing line 18, comprising sterile tubing extending through a peristaltic pump 16. From the kidney cooling

jacket, a return tubing line 20 extends through the cooling liquid 12 encased in the cooling sleeve 14 to be rechilled and recirculated.

It should be understood that the specifications appearing in FIG.1 for storage temperature and duration of cooling liquid supply 12 and the heat exchanger bottle cooler sleeve 14 are exemplary only. Further the cooling liquid flow rate is variable as a function of the composition of the cooling liquid itself, the cooling liquid temperature at the cooling jacket input, the mass of the transplant and the heat transfer coefficient. Various alternative heat exchanger configurations and systems have been heretofore set forth.

Additionally, in connection with the FIG. 1 reference to the tubing connector clamps any conventional tubing connector may be employed in conjunction with the present invention.

Referring now to FIG. 7, the cooling jacket 10 comprises a unitary double panel with layers 24, 26 joined by "T" shaped welds 28, which are arrayed in a pattern to provide a laminar circulation flow path for the chilled cooling liquid.

In FIG. 9 there is illustrated the interior surface of an open jacket prior to assembly for receiving a donor organ. The jacket includes a right section 38 and a left section 40 which are folded about a hinge or fold line 42 to form a pocket for receiving the donor organ. A weld bar 50 is connected to each lateral end of the right and left sections 38, 40 by a pair of flexible legs 51.

After the sections 38, 40 are folded, the two weld bars 50 are overlapped, registered with one another and secured together by a continuous weld. A positioning tab 46, is spot welded to the conjoined weld bars 50. A web 56 wraps about the opposite lateral end of the folded sleeve sections.

A further weld bar 52 is connected to the right and left sections 38, 40 by a pair of flexible arms 53. After the sections 38, 40 are folded, the two weld bars 52 are overlapped, registered with one another and are secured together by a

continuous weld. A further positioning tab 48, is spot welded to the conjoined weld bars 52.

Pursuant to the invention a third layer 57 is registered with and positioned over the conjoined weld bars 52 as well as that portion of the positioning tab 48 which is spot welded to the conjoined weld bars 52. The third layer 57 is secured over the conjoined weld bars 52 by a series of discrete transverse weld lines 55, whereby open slots are formed between adjacent weld lines 55.

With the weld bars 50, 52 secured by their respective continuous welds, , the pocket for receiving a donor organ has been formed.

A sling 30 depends from the right section 38 for insertion of the donor organ into the pocket. The sling includes an appropriately sized aperture 32. Protruding through the aperture 32 will be the renal artery, the renal vein and the ureter. The renal artery carries oxygenated blood from the heart to the kidney and will be surgically attached to the iliac artery of the recipient. The renal vein, which returns the blood from the kidney is attached to the iliac vein while the ureter, when attached to the bladder serves as the conduit of the urine formed by filtration of blood by the kidney.

A pair of straps 44 are provided for securing the jacket 10 about the donor organ. One end of each strap 44 is spot welded to the sling 30. Adjacent the other end of each strap 44, the straps are threaded through the slots formed between the adjacent weld lines 55.

The positioning tab 46, affixed to the conjoined weld bars 50, a further positioning tab 47, affixed to a weld bar 54 of the web 56, and the tab 48 are employed to position the implant and the cooling jacket 10 within the patient's body cavity. The continuous welds as well as the weld lines 55 may comprise electrostatic welds and the straps 44 as well as the tabs 46, 47 and 48 may be adhered by electrostatic welds.

It should be understood that the jacket may be fabricated of any suitable medical grade thermoplastic, such as, polyurethane, polyethelyene, polypropylene, polyamide, polyvinyl chloride, acrylonitrile butadiene styrene, etc.

Ilona Korczak-Cegielska

Ilona Korczak-Cegielska

Alberto Breda

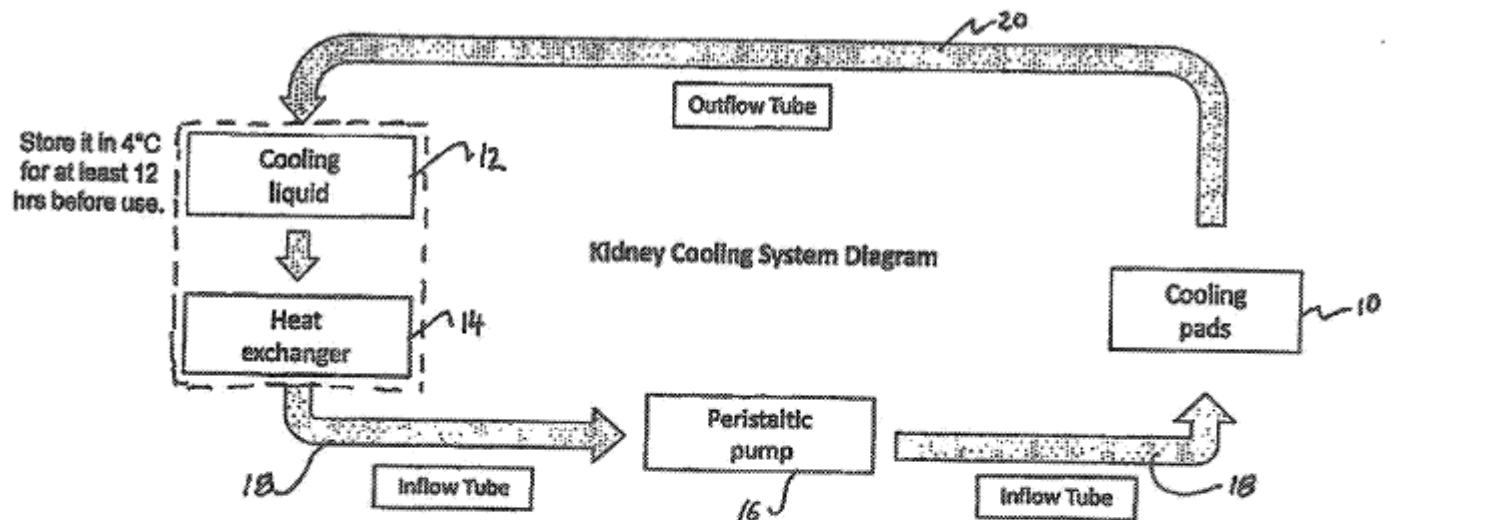
Alberto Breda

Andrzej Decewicz

Andrzej Decewicz

Konrad Brodaczewski

Konrad Brodaczewski



**Heat exchanger:
Bottle cooler sleeve**

Fits standard-size bottles up to 2L capacity.

- 1) Place it into the freezer at -20°C for at least 12 hrs.
- 2) Wrap it around the bottle with cooling liquid and tighten.

Store in freezer for ready use.

Tubing loading:

The flexible tubing can be quickly replaced and it can be automatically adapted to fit into the clamping device.

- 1) Move up the clamping device using the lever.
- 2) The clamping device will go up.
- 3) Pass the peristaltic tube through the clamping device.
- 4) Move down the clamping device using the lever.

Make sure that coolant path is a closed circuit and all tubings are properly connected. Turn on the pump and set the flow to 120ml/min.

**Cooling pads:
Kidney cooling jacket**

Put on the transplant the kidney cooling jacket.

FIG. 1

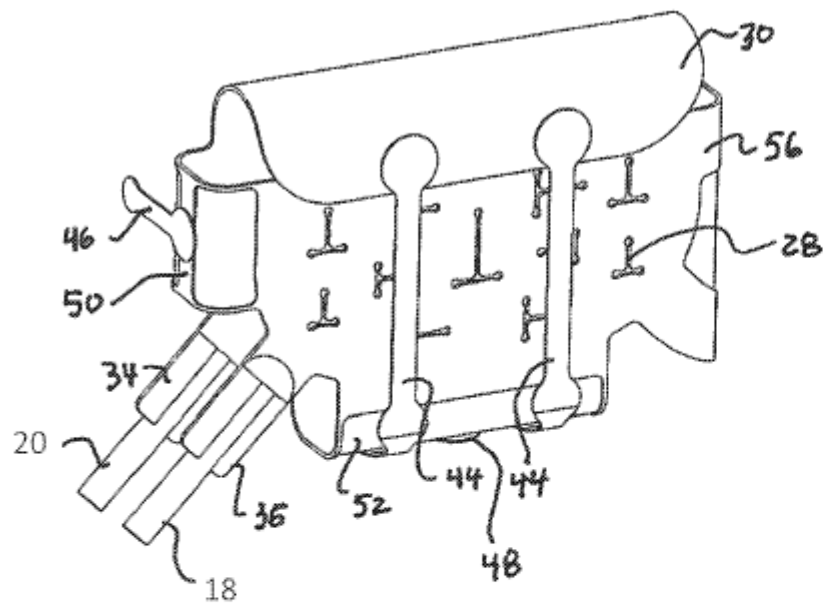


FIG. 2

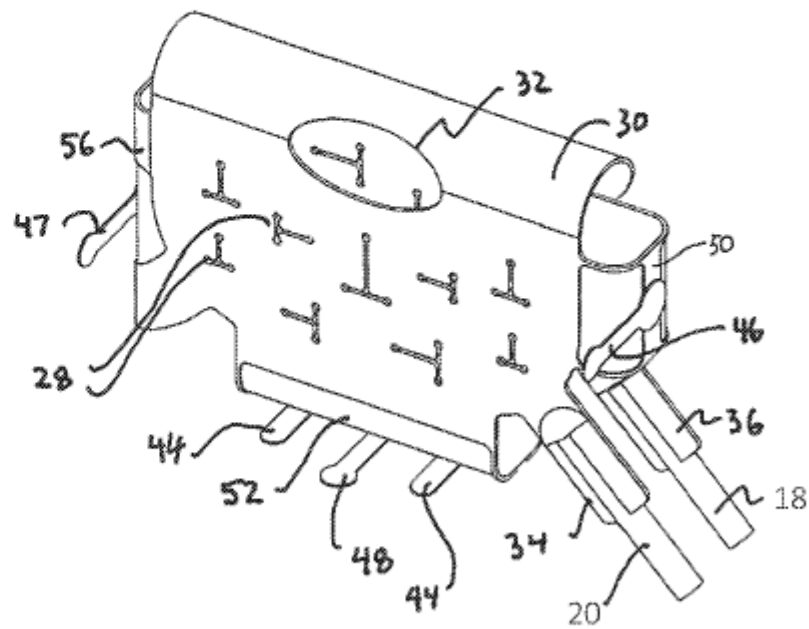


FIG. 3

FIG. 4

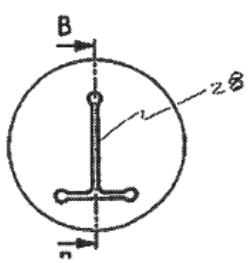
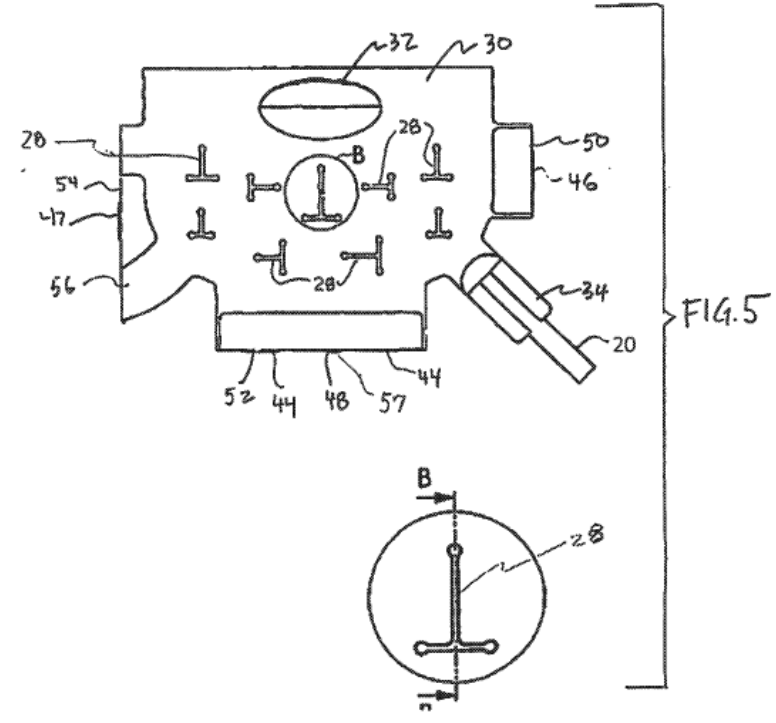
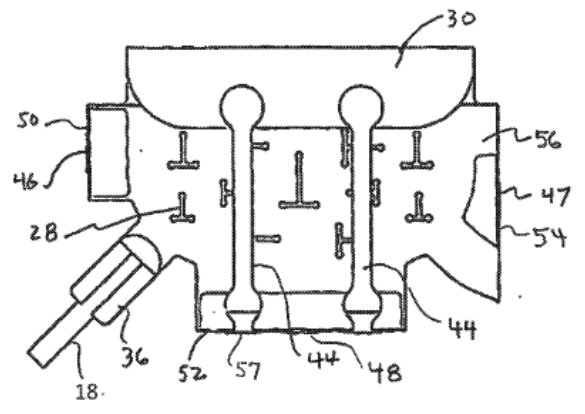


FIG. 6

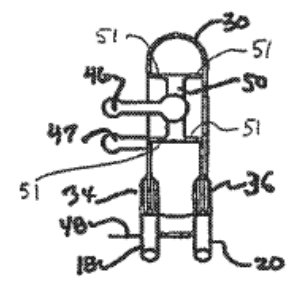


FIG. 7

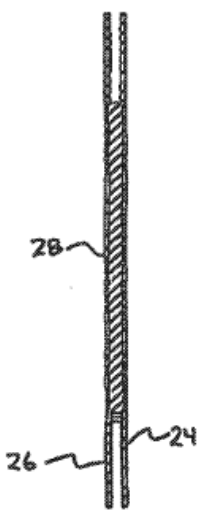
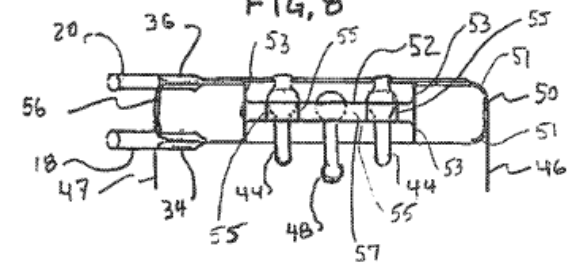


FIG. 8



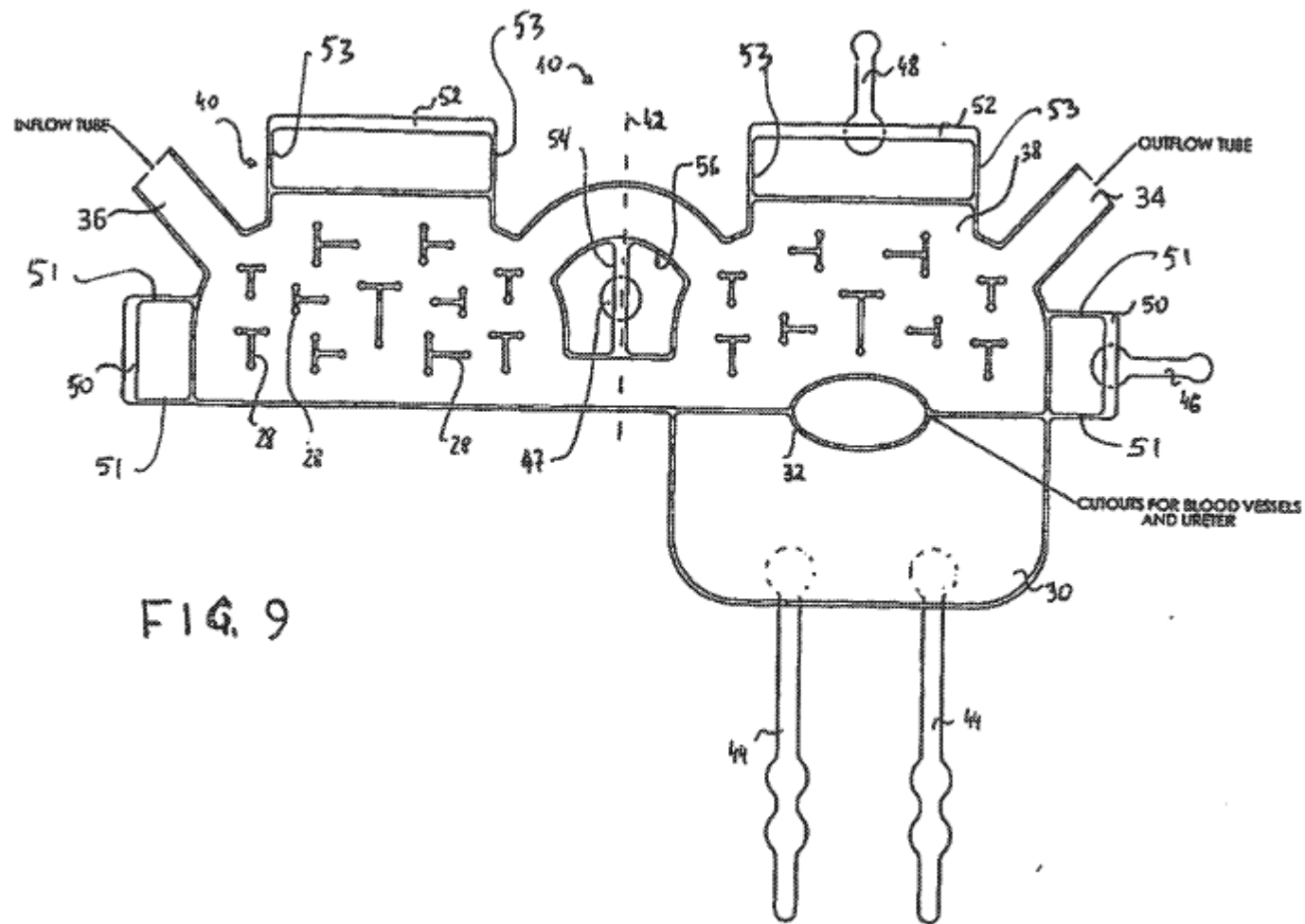


FIG. 9

