

Prof. zw. dr hab. med. Marek Sasiadek
Kierownik Katedry Radiologii
i Zakładu Radiologii Ogólnej, Zabiegowej i Neuroradiologii
Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
ul. Borowska 213
50-556 Wrocław

Wrocław, 2.11.2020

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr. inż. Radosława KULIŃSKIEGO

**“Jądrowy rezonans magnetyczny i spektroskopia Mössbauerowską jako metody
komplementarne badań mechanizmów procesu neurodegeneracji”**

Choroby neurodegeneracyjne, ze względu na zwiększającą częstość ich występowania w krajach rozwiniętych, związaną ze starzeniem się populacji, mają ogromne znaczenie medyczne, społeczne i ekonomiczne. Równocześnie, pomimo ogromnej liczby badań poświęconych tym schorzeniom, ich etiologia i patogenezą wciąż nie są do końca wyjaśnione, co ogranicza możliwości skutecznego leczenia. Wiadomo jednak, że są to procesy wieloczynnikowe, z udziałem m. in. zaburzeń genetycznych, metabolicznych, zapalnych, immunologicznych oraz bioenergetycznych.

Mgr inż. Radosław Kuliński w swojej rozprawie doktorskiej podjął się badań wybranych struktur mózgowych za pomocą pomiarów czasów relaksacji T1 i T2 rezonansu magnetycznego oraz spektroskopii mössbauerowskiej w wybranych chorobach neurodegeneracyjnych. Dobór tematu należy uznać za trafny i interesujący z punktu widzenia poznawczego, a potencjalnie także klinicznego, gdyż badania te mogą wnieść nowe elementy do poznania etiopatogenezy chorób neurodegeneracyjnych.

Rozprawa doktorska mgr. inż. Radosława Kulińskiego liczy 102 strony, zawiera liczne tabele i ryciny oraz dokładny spis treści, tabel i rycin, co ułatwia zapoznanie się z tekstem. Na początku rozprawy umieszczono zwięzłe, ale treściwe streszczenie polskie i angielskie, wraz ze słowami kluczowymi. Autor nie zastosował klasycznego układu pracy, m. in. „Wstęp” i „Cel pracy” zostały wyłączone z numeracji rozdziałów; nie ma tytułów rozdziałów, a jedynie poszczególnych podrozdziałów; wreszcie brak jest klasycznego rozdziału „Omówienie (Dyskusja)”, w którym Doktorant mógłby skonfrontować swoje wyniki z badaniami innych autorów i dokładniej przedstawić koncepcje etiopatogenetyczne oparte na swoich wynikach. Taki układ sprawia, że rozprawa w niektórych częściach nie jest wystarczająco przejrzysta.

Rozprawę rozpoczyna krótki “Wstęp”, w którym Autor przedstawia główne czynniki etiopatogenetyczne chorób neurodegeneracyjnych, zwracając szczególnie uwagę na stężenie żelaza oraz zaburzenia metabolizmu ferrytyny w różnych strukturach mózgowia. Opisuje wyniki dotychczasowych badań chorób neurodegeneracyjnych za pomocą spektroskopii mössbauerowskiej, na podstawie których powstała m. in. koncepcja stresu oksydacyjnego jako mechanizmu neurodegeneracji w chorobie Parkinsona oraz przewlekłego stanu zapalnego jako podłoża choroby Alzheimera. Mgr Kuliński omawia też dotychczasowe próby pomiarów czasów relaksacji T1 i T2 w chorobach neurodegeneracyjnych, które nie przyniosły jednoznacznych wyników, co skłoniło Go do podjęcia tego tematu w rozprawie doktorskiej

Następnie Doktorant przedstawia „Cel pracy”, którym było „zbadać procesy neurodegeneracyjnych, w tym różnicowania jednostek chorobowych, poprzez analizę czasów relaksacji T1 i T2 uzyskanych metodą rezonansu magnetycznego” oraz „porównanie wyników czasu relaksacji w wynikami spektroskopii mössbauerowskiej i metody ELISA”.

W rozdziale 1 mgr Kuliński przedstawia najpierw rolę żelaza i ferrytyny, w którym znajduje się żelazo w mózgowiu, podkreślając, że struktury mózgowia o największej zawartości żelaza w mózgowiu to istota czarna, gałka biała i hipokamp. Następnie opisuje pobieżnie choroby neurodegeneracyjne, które są przedmiotem badań w rozprawie: chorobę Parkinsona (PD), postępujące porażenie nadjądrowe (PSP) i chorobę Alzheimera (AD). W kolejnym podrozdziale omawia główne mechanizmy neurodegeneracji w w/wym. chorobach, skupiając się szczególnie na stresie oksydacyjnym, który jest wynikiem nadmiernej produkcji wolnych rodników, powstających m. in. wskutek obecności reaktywnych postaci tlenu (np. nadtlenu wodoru) oraz zwiększonej ilości żelaza niezwiązanego z ferrytyną.

W podrozdziale 2.1 inż. Kuliński przedstawia fizyczne podstawy rezonansu magnetycznego (MR), w sposób przystępny także dla lekarzy, skupiając się dodatkowo na właściwościach magnetycznych żelaza oraz cząsteczek ferrytyny, zwłaszcza ich wpływu na procesy relaksacji podłużnej i poprzecznej. W podrozdziale 2.2 równie przekonująco opisuje zasady działania aparatu MR oraz powstawania obrazu MR w głównych sekwencjach (T2-zależnych, T1-zależnych). W podrozdziale 2.3 Doktorant przedstawia krótko główne metody obrazowe w diagnostyce mózgowia i ich zastosowanie w chorobach neurodegeneracyjnych, choć moim zdaniem znacznie przecenia możliwości ultrasonografii przezczaszkowej. Z kolei w podrozdziale 2.4 Autor dokładnie i precyzyjnie opisuje metody badań fizycznych tkanki mózgowej zastosowane w rozprawie doktorskiej: test immunoenzymatyczny ELISA oraz spektroskopię mössbauerowską. Pierwsza z nich umożliwia spektrofotometryczne oznaczenie stężenia określonych białek, zaś druga – określenie stężenia związków żelaza, co ma zastosowanie m. in. w badaniach nad chorobami neurodegeneracyjnymi.

W rozdziale 3.1 Doktorant przedstawia materiał badawczy 89 pacjentów z potwierdzonymi chorobami degeneracyjnymi, w tym 46 z PD, 27 z PSP i 16 z AD; a także 24 pacjentów grupy kontrolnej. Niepokoi mnie, że grupy wydają się niedopasowane wiekowo, co najmniej w przypadku grupy AD, w której średnia wieku jest wyraźnie wyższa, choć nie można tego obiektywnie stwierdzić, z powodu braku analizy statystycznej dopasowania wiekowych grup.

Rozdział 3.2 poświęcony jest metodyce badań. Autor szczegółowo opisuje sposób wykonywania badań MR, dobór sekwencji obrazowania, określenie optymalnej lokalizacji obszarów zainteresowania (ROI) do pomiarów, wreszcie dokładny matematyczny sposób obliczania czasów relaksacji T1 i T2. Pomiary zostały dokonane z zastosowaniem oprogramowania MatLab, na podstawie własnego skryptu opracowanego przez Doktoranta. Ocena poprawności pomiarów została zweryfikowana za pomocą testu z fantomem zawierających substancje o znanych czasach relaksacji.

W rozdziale 3.3. (Wyniki) Autor w licznych tabelach i na histogramach prezentuje wyniki obliczeń czasów T1 i T2 w wybranych strukturach mózgowia (istota czarna, gałka biała, hipokamp) w poszczególnych grupach pacjentów (PD, PSP, AD) oraz w grupie kontrolnej (podrozdział 3.3.1). Wykazano liczne różnice pomiędzy wartościami czasów relaksacji T1 i T2 w podgrupach chorobowych, w porównaniu z grupą kontrolną, które Doktorant przedstawia (podrozdział 3.3.2) niestety w sposób mało przejrzysty, wyliczając kolejne różnice w tekście, podając mediany poszczególnych pomiarów czasów relaksacji, bez podania poziomu istotności statystycznej.

W podrozdziale 3.3.3. porównano wyniki pomiarów czasów T1 i T2 w badanych podgrupach z wynikami spektroskopii mössbauerowskiej i metody Elisa. Wykazano silną zależność odwrotności czasu relaksacji T1 z obliczeniami koncentracji żelaza w istocie czarnej, gałce białej i hipokampie, uzyskanymi za pomocą spektroskopii mössbauerowskiej i metody Elisa. Analiza rozkładów czasów relaksacji T1 wykazała kilka różnic istotnych statystycznie, które korespondowały z koncentracją żelaza obliczaną za pomocą spektroskopii mössbauerowskiej i metody Elisa:

- dłuższe czasy T1 w prawidłowym hipokampie niż w gałce białej i substancji czarnej
- mniejsze wartości czasu T1 w gałce białej w PSP w porównaniu z grupą kontrolną (GK)
- mniejsze wartości czasu T1 w istocie czarnej w AD w porównaniu z GK
- mniejsze wartości czasu T1 w hipokampie w AD w porównaniu z GK

W odniesieniu do pomiarów czasu T2 różnice statystyczne były następujące:

- dłuższe czasy T2 w prawidłowym hipokampie niż w gałce białej i substancji czarnej
- różnica wartości czasu T2 w istocie czarnej w PD w porównaniu z GK
- różnica wartości czasu T2 w gałce białej w PD w porównaniu z GK



- większe wartości czasu T2 w istocie czarnej w PSP w porównaniu z GK
- mniejsze wartości czasu T2 w gałce bladej w PSP w porównaniu z GK
- mniejsze wartości czasu T2 w gałce bladej w AD w porównaniu z GK

Na podstawie uzyskanych wyników Autor stworzył ciekawe modele graficzne oparte o miarę odległości Mahalanobisa (podrozdział 3.3.4), wskazujące prawdopodobieństwo jednego z rozpoznań (PD, PSP, AD, noma) w zależności od uzyskanych wartości czasów T1 i T2. Po przeprowadzeniu testów weryfikujących stwierdził, że najbardziej efektywny jest model sześciowymiarowy, choć pozwala on na dyskryminację jedynie 3 z 4 grup (bez AD).

W rozdziale 3.3.5 Autor przedstawia 8 wniosków z rozprawy. Najistotniejsze z nich to potwierdzenie zależności czasów T1 i T2 od koncentracji żelaza ferrytynowego (wniosek 1); koncepcja wyjaśnienia złożonych przyczyn zmian czasu T2 w istocie czarnej u chorych z PD (wniosek 3); koncepcja zmian struktury ferrytyny jako przyczyny zmian wartości czasu T2 w gałce bladej i istocie czarnej u chorych z PSP (wniosek 5) oraz koncepcja zwiększenia koncentracji ferrytyny w niewielkim stopniu doładowanej żelazem w AD. We wniosku 8 Doktorant uczciwie stwierdza, że stworzony przez niego model oparty o miarę odległości Mahalanobisa nie pozwala na wiarygodne różnicowanie analizowanych chorób.

Pozostałe wnioski budzą moje wątpliwości. Wnioski 2 i 4 są powtórzeniem wyników rozprawy, a wniosek 7 ma charakter luźnej interpretacji, nieopartej uzyskanymi wynikami.

Rozdział 4 (Podsumowanie), liczący 2 strony, jest pewnym substytutem „Omówienia”: Autor krótko analizuje i interpretuje swoje najważniejsze wyniki. Podkreśla, że badania potwierdziły rolę koncentracji żelaza w analizowanych chorobach neurodegeneracyjnych, która może być oceniona na podstawie pomiarów czasów relaksacji. Zwraca uwagę na możliwość różnicowania PD i PSP na podstawie czasu T2 w istocie czarnej. W oparciu o swoje wyniki przedstawia też koncepcję mechanizmów neurodegeneracji.

Rozprawę kończy „Bibliografia”, która liczy 65 pozycji, jest dobrze dobrana, uwzględnia najnowsze doniesienia oraz publikacje krajowe.

Na koniec przedstawię kilka krytycznych uwag formalnych:

- w tytule i w tekście pracy używane jest określenie „jądrowy rezonans magnetyczny”, który jest nazwą historyczną; od wielu lat w piśmiennictwie medycznym używa się terminu „rezonans magnetyczny (*magnetic resonance*- MR)” lub „obrazowanie rezonansu magnetycznego (*magnetic resonance imaging*- MRI)”
- Autor używa niewłaściwego terminu „mózg”, zamiast prawidłowej nazwy „mózgowie” (mózg obejmuje jedynie część nadnamiotowych struktur wewnątrzczaszkowych)

- trochę rażą mnie określenia „kontrolna gałka biała”, „parkinsonowski hipokamp”, które mają charakter nieco kolokwialny
- na str. 78 w podpunkcie 8/T1 podane są wyniki dla AD, a w komentarzu do tego pojawia się omyłkowo PD
- Doktorant nie stosuje cytowania tabel i rycin w tekście, w związku z tym są one wstawione w określonym miejscu tekstu; ma to pewne zalety, ale sprawia, że niektóre tabele są rozmieszczone na dwóch sąsiadujących stronach
- zwyczajowo tytuły tabel znajdują się nad, a nie pod nimi oraz używa się raczej określenia „rycina”, a nie „rysunek”

Podsumowując uważam, że rozprawa doktorska mgr. inż. Radosława Kulińskiego jest wartościowym opracowaniem ważnego zagadnienia, przynoszącego wyniki ważne pod względem poznawczym, a potencjalnie także klinicznym. Zastrzeżenia, które zgłosiłem w tekście recenzji powyżej, nie mają istotnego wpływu na całościową pozytywną ocenę pracy.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny praca mgr. inż. Radosława Kulińskiego pt. „Jądrowy rezonans magnetyczny i spektroskopia mössbauerowska jako metody komplementarne badań mechanizmów procesu neurodegeneracji” spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim, określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowych z 2003 r., z późniejszymi zmianami.

W związku z tym zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Fizyczne Politechniki Warszawskiej o dopuszczenie mgr. inż. Radosława Kulińskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. med. Marek Sasiadek

