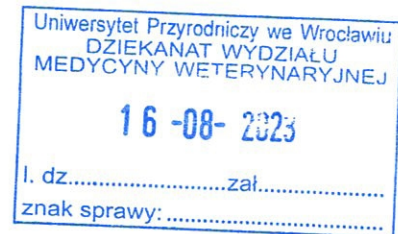




Uniwersytet Medyczny w Lublinie
Zakład Elektroradiologii
ul. Staszica 11, Lublin 20-081
zaklad.elektroradiologii@umlub.pl

Lublin, 10.08.2023

Profesor dr hab. n. med. Radosław Pietura
Zakład Elektroradiologii
Uniwersytet Medyczny w Lublinie



RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Tytuł rozprawy:

Badania drogi wzrokowej u gryzoni laboratoryjnych metodami rezonansu magnetycznego *in vivo*

Autor rozprawy:

Lekarz weterynarii Marlena Wełniak-Kamińska

I. Jakie zagadnienie naukowe jest rozpatrzone w pracy /teza rozprawy/ i czy zostało ono dostatecznie jasno sformułowane przez autora? Jaki charakter ma rozprawa (teoretyczny, doświadczalny, inny)?

Celem przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej zrealizowanej przez lekarz weterynarii Marlenę Wełniak-Kamińską pod kierunkiem Promotora Prof. dr hab. n. med. Paweł Grieb i z pomocą Promotora pomocniczego dr n. med. Maciej Świątkiewicz było porównanie danych wolumetrycznych, funkcjonalnych i profili metabolicznych, dotyczących struktur drogi wzrokowej pomiędzy małymi gryzoniami ze spontaniczną retinopatią i zwierzętami kontrolnymi. Praca posiada charakter doświadczalny i dotyczy zastosowania skanera MRI/MRS z magnezem o indukcji pola 7T z wykorzystaniem obrazowania anatomicznego (MRI) i spektroskopii protonowej (H-MRS) oraz obrazowania wzmocnionego kontrastem manganowym (MEMRI). Oprócz celu głównego Doktorantka definiuje dwa

dotatkowe cele naukowe obejmujące scharakteryzowanie 1) różnic powstałych w mózgu w wyniku udomowienia szczura wędrownego (*Rattus norvegicus*), ze szczególnym uwzględnieniem struktur odpowiedzialnych za przetwarzanie bodźców zmysłu wzroku; 2) różnic morfometrycznych gałki ocznej, zachodzących podczas rozwoju jaskry u myszy szczepu DBA/2J. Zagadnienie poruszane w pracy zostało bardzo jasno sformułowane.

Badanie MR gałki ocznej lub mózgu myszy i szczurów jest możliwe dzięki wykorzystaniu przez doktorantkę wysokopoleowego aparatu o indukcji pola 7T, który posiada maksymalny gradient pola cewek gradientowych: 300mT/m i dedykowane do oka oraz mózgu gryzoni cewki powierzchniowe. Taka aparatura pozwala na uzyskanie znacznego wzrostu stosunku sygnału do szumu i zwiększenia rozdzielczości przestrzennej do 50 μm . Multiparametryczne techniki rezonansowe poprzez stosowanie różnych typów sekwencji impulsów, umożliwiają wielokierunkowe badanie dróg wzrokowych u gryzoni laboratoryjnych zarówno na poziomie tkankowym jak i molekularnym. Obrazowanie T1-, T2- i PD-zależne może być ubogacone o zastosowaniem środków cieniujących, badania perfuzyjne, dyfuzyjne (DWI i DTI), angiografie MR (bez zastosowania środków), obrazowanie funkcjonalne lub badanie metabolizmu mózgu z zastosowaniem spektroskopii MR.

Doktorantka podjęła się bardzo trudnego zadania jakim jest badanie bardzo małych struktur drogi wzrokowej gryzoni, jednocześnie stosując metody segmentacji pozwalające na obiektywną i kwantyfikowaną ocenę wielkości i funkcji badanych struktur.

Celowo podkreślam tutaj rolę segmentacji i zastosowanie cyfrowych atlasów mózgowia małych gryzoni, ponieważ uśredniony wzorzec mózgu oraz szablon umożliwiają automatyczne i precyzyjne oznaczenie licznych struktur mózgowia wyznaczonych na podstawie histopatologicznego atlasu mózgu gryzoni.

W tym kontekście poszukiwanie metody standaryzacji, która minimalizuje wariację między poszczególnymi modelami badanych szczurów i myszy jest bardzo ważnym zagadnieniem o nie do przecenienia wartości praktycznej.

Cele pracy zostały przedstawione w sposób jasny, zwięzły i precyzyjny.

2. Czy w rozprawie przeprowadzono w sposób właściwy analizę źródeł / w tym literatury światowej, stanu wiedzy i zastosowań w przemyśle /świadczący o dostatecznej wiedzy autora. Czy wnioski z przeglądu źródeł sformułowano w sposób jasny i przekonujący?

Rozprawa obejmuje 111 numerowanych stron, na których oprócz zasadniczego tekstu, Doktorantka zamieściła 38 rysunków, 8 tabel oraz wyjaśnienie używanych skrótów, a także ponad 294 pozycji spisu najnowszej i najważniejszej literatury.

Rozprawa doktorska we wstępie (rozdział 2), bardzo wyczerpująco wprowadza czytelnika w zagadnienia budowy anatomicznej i funkcjonalne drogi wzrokowej myszy i szczurów. Kolejnym etapem wchodzenia w świat badań prowadzonych przez Doktorantkę jest opis wpływu sztucznego doboru na zmysł wzroku i struktury mózgowia myszy i szczurów. Na tle szczegółowego opisu obrazowania *in vivo* w badaniach zwierząt laboratoryjnych metodami optycznej tomografii koherencyjnej, ultrasonografii i tomografii komputerowej oraz badań izotopowych bardzo syntetycznie wkracza czytelnik w świat multiparametrycznych technik rezonansu magnetycznego. Niezwykle skomplikowane fizycznie zagadnienia zjawiska zaawansowanego rezonansu magnetycznego w sposób bardzo pewny stosuje Doktorantka do badań morfometrycznych gałki ocznej i mózgowia gryzoni laboratoryjnych. Nie są dla Doktorantki również tajemnicą techniki funkcjonalnego rezonansu magnetycznego z nowatorską techniką MEMRI oraz analiza przyżyciowych badań spektroskopowych (MRS). Wartość rozdziału podnosi fakt, że w wielu opisywanych zagadnieniach Doktorantka jest pionierką wprowadzającą je w polskiej nauce. Analiza literatury światowej w wielu miejscach przeplatana jest własnymi doświadczeniami nieodbiegającymi poziomem od publikacji z wiodących ośrodków. Wstęp jest tak zrozumiale napisany, wielokrotnie przemyślany, że może stanowić bardzo edukacyjny podręcznik dla adeptów badania drogi wzrokowej w małych gryzoni. Cały rozdział 2 opiera się na głębokiej analizie najważniejszych publikacji w tej dziedzinie i umiejętnym ich przywołaniu w odpowiednich fragmentach wstępu.

Rozdział 4 zawiera opis części eksperymentalnej na zwierzętach przeprowadzonej zgodnie z obowiązującymi wytycznymi i po uzyskaniu zgód Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Warszawie. Rozdział zawiera szczegółowy opis zarówno badanego materiału jak i zastosowanych procedur. Kluczowe dla dalszej części pracy było dobranie odpowiednich grup badanych zwierząt. Obrazowano w MR mózgowie i gałki oczne samców albinotycznych szczura laboratoryjne stada Wistar (n=8) oraz pigmentowanego szczura laboratoryjnego szczepu Brown Norway (n=8), a także dzikiego szczura wędrownego *Rattus norvegicus* (n=9). Ponadto Doktorantka przeprowadziła badania MR myszy z dwóch szczepów: DBA/2J/Command stanowiące model przewlekłej jaskry u ludzi i szczepu C57BL/6J/Command myszy kontrolne nie rozwijające spontanicznie jaskry. Wykonywana akwizycja obrazów jest

opisywana tak szczegółowo, że każdy użytkownik skanera MR o indukcji pola 7T dla małych gryzoni bez trudu spoglądając w liczne, szczegółowe tabele jest zdolny bez trudu wykonać podobne skanowanie.

Rozdział 5 prezentuje wyniki badań. W pierwszej części rozdziału Doktorantka przedstawia wyniki obrazowania anatomicznego i spektroskopii protonowej u trzech grup szczurów. U szczurów udomowionego stada Wistar stwierdzono mniejszą względną objętość kory wzrokowej oraz kompensacyjne powiększenie objętości niektórych ośrodków mózgu związanych z innymi zmysłami. Bardzo ciekawym aspektem badań Doktorantki jest ocena zmian w mózgu, które powstały w procesie udomowienia szczura. Okazało się, że w trakcie tego procesu doszło do zmniejszenia objętości pewnych struktur związanych z przetwarzaniem wrażeń zmysłowych. Analiza wolumetryczna wykazała mniejszą względną objętość kory także u udomowionej myszy. Natomiast zastosowanie obrazowania wzmocnionego kontrastem manganowym (MEMRI) umożliwiło ocenę funkcjonalną struktur drogi wzrokowej u myszy *in vivo*. U starszych myszy DBA/2J doszło do zmniejszenia aktywnego transportu aksonalnego manganu. Badania metodą lokalizowanej spektroskopii z okolicy kory wzrokowej wykazały zmiany degeneracyjne i reorganizacyjne w korze wzrokowej, świadczące o dużym zaangażowaniu glicju w tych procesach.

Podsumowując, Doktorantka wykazała, że multiparametryczne techniki rezonansu magnetycznego z zastosowaniem skanera 7TMRI/MRS umożliwiają wszechstronną przyżyciową ocenę drogi wzrokowej u gryzoni laboratoryjnych. Ponadto badania wykazały strukturalne, funkcjonalne i metaboliczne zmiany w mózgu towarzyszące degeneracji siatkówki, co może przyczynić się do lepszego zrozumienia, jaki wpływ mają zmiany w siatkówce na neuroanatomie i funkcjonowanie głównych ośrodków wzrokowych w mózgu i ewentualną kompensację w ośrodkach związanych z innymi zmysłami.

Przedstawione przez autorkę końcowa dyskusja w rozdziale 6 jest poprawna i zgodna z przedstawionym w rozdziale 5 materiałem.

3. Czy autor rozwiązał postawione zagadnienia, czy użył właściwej do tego metody i czy przyjęte założenia są uzasadnione?

Na powyższe pytania należy odpowiedzieć twierdząco. Autorka wykazała się praktyczną znajomością zagadnień związanych z zastosowaniem zaawansowanych technik MR w obrazowaniu drogi wzrokowej małych gryzoni i wszystkie problemy rozwiązała w sposób

właściwy. Uważam, że Autorka użyła właściwych metod badawczych a przyjęte założenia były uzasadnione i osadzone w literaturze światowej. Wielodyscyplinarność opracowania to szczególnie wartość przedstawionej do oceny dysertacji. Z tym większą przyjemnością zapoznałem się z przedstawioną pracą doktorską. Nie ukrywam, że obszerność, kompleksowość i ilość zastosowanych nowatorskich metod badawczych zmusiło mnie do dużego wysiłku, co jednak uczyniłem z ogromną przyjemnością.

4. Czy autor wykazał umiejętność poprawnego i przekonującego przedstawienia uzyskanych przez siebie wyników /zwięzłość, jasność, poprawność redakcyjna rozprawy?

Rozprawa napisana jest w jasny sposób i może stanowić podstawę do publikacji podręcznikowej. Czytając rozprawę doktorską Pani Marleny Wełniak-Kamińskiej czytelnik odnosi nieodparte wrażenie przebywania w pewnym dokładnie przemyślanym i wielokrotnie wypróbowanym układzie zamkniętym w którym żadna niepotrzebna myśl lub mysz się nie prześliznie bez potrzeby. Pewną trudność w końcowym zamknięciu tematu sprawia nieznaczące uogólnienie wniosków w porównaniu z celami, ale jest to kwestia ogromnego dorobku Doktorantki i ośrodka, z którego się wywodzi, co mogło skłonić do uogólnień. Nie wpływa to na końcową ocenę pracy. Strona edycyjna jest bez zarzutów, trudno jest znaleźć nawet pojedyncze pomyłki edytorskie lub stylistyczne.

Stwierdzam, że rozprawa doktorska przedstawiona przez lekarz weterynarii Marlenę Wełniak-Kamińską pt. „Badania drogi wzrokowej u gryzoni laboratoryjnych metodami rezonansu magnetycznego *in vivo*” spełnia warunki określone w art. 13 ust.1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki.

W związku z powyższym, przedkładam wniosek do Rady Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie rozprawy lekarz weterynarii Marleny Wełniak-Kamińskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Wobec wybitnego charakteru pracy doktorskiej lekarz weterynarii Marleny Wełniak-Kamińskiej czuje się zobligowany wnioskować o jej wyróżnienie.



Prof. dr hab. n. med.
Radosław Pietura
specjalista radiolog 1589678