

Recenzja rozprawy doktorskiej

Autor: Mgr Marek Kijonka

Tytuł: Przetwarzanie dużych zbiorów danych MRI i MRS – opracowanie subpopulacyjnego atlasu MRI dla populacji polskiej oraz scharakteryzowanie metabolicznych zmian rozwojowych obserwowanych techniką ^1H MRS

Promotor: Prof. dr hab. Maria Sokół

Ogólna charakterystyka rozprawy i ocena wyboru tematyki rozprawy

Przedłożona do recenzji rozprawa jest zbiorem czterech oryginalnych artykułów naukowych o zbieżnej tematyce naukowej. Do kopii publikacji doktorant dodał omówienie obejmujące wykaz skrótów, streszczenie, listę publikacji, założenia pracy, cel pracy, materiał metody, omówienie wyników, wnioski, osobne omówienie każdej z publikacji oraz wspólne dla całej pracy piśmiennictwo.

Wszystkie cztery publikacje mają bardzo istotny wkład eksperymentalny. Wyniki eksperymentalne wykorzystane w publikacjach bazują na trzech projektach naukowych pomiaru widm rezonansu magnetycznego u grup pacjentów. Pierwszy z projektów (Zbiór danych numer 1) obejmował rejestrację obrazów rezonansu magnetycznego in vivo mózgu (T1, T2, gęstości protonowej) u 176 zdrowych ochotników z regionu Górnośląskiego (68 mężczyzn, 108 kobiet). Pierwszy projekt był bazą eksperymentalną dla publikacji 1 i 2. Drugi projekt (Zbiór danych numer 2) obejmował pomiary poziomów metabolitów mózgu, in vivo, techniką ^1H MRS u 71 zdrowych ochotników (28 mężczyzn, 43 kobiety). Drugi projekt tworzył bazę pomiarową dla publikacji 3. Trzeci z projektów (Zbiór danych numer 3) dotyczył pomiaru in vitro widm surowicy krwi obwodowej, techniką ^1H NMR w grupie 20 dzieci (pacjentów dziecięcych z drobnymi problemami neurologicznymi) (13 chłopców, 7 dziewczynek). Wyniki te były porównane z analogicznymi pomiarami dla grupy dzieci z epilepsją. Trzeci projekt stworzył bazę eksperymentalną dla publikacji 4.

Na bazie zgromadzonych oryginalnych danych eksperymentalnych możliwe było zrealizowanie szeregu celów badawczych związanych z rozkładami cech wolumetrycznych obszarów mózgu, a także rozkładami metabolitów mózgowych, a także ich charakterystyką w zależności o wieku, płci oraz regionów mózgu. Te cele badawcze, odniesione do populacji polskiej nie były wcześniej podejmowane, dlatego opublikowane wyniki są oryginalne i interesujące. Analizy statystyczne zgromadzonych danych pozwalają na stworzenie zaplecza obserwacyjnego do badania stanów chorobowych, przez możliwość ich wykorzystania jako danych kontrolnych. Obserwowane zależności i relacje mogą być także porównywane do dostępnego piśmiennictwa. Możliwe było także scharakteryzowanie zmienności wiekowej u dzieci pewnych metabolitów (mierzonych w surowicy krwi), a także scharakteryzować grupę metabolitów różnicujących grupę dzieci chorych na epilepsję od grupy referencyjnej.

Tematyka rozprawy jest bardzo aktualna i ważna. Techniki pomiarowe NMR są jednym z głównych kierunków rozwoju diagnostyki oraz diagnostyki obrazowej wielu chorób, w tym chorób nowotworowych. Z jednej strony techniki te dostarczają precyzyjne dane diagnostyczne, z drugiej zaś wymagają coraz bardziej zaawansowanych metod obliczeniowych, matematycznych, statystycznych do ich odpowiedniej analizy. Uzasadnia to konieczność wspierania badań naukowych w tym obszarze.

Wszystkie publikacje wchodzące w skład rozprawy są pracami wieloautorskimi. W publikacji 1 doktorant był pierwszym autorem. Z dołączonych do omówienia rezultatów prac oświadczeń współautorskich wynika, że w publikacjach 1 i 2 doktorant brał udział w opracowaniu koncepcji badań, analizie i przetwarzaniu danych oraz redagowaniu manuskryptu, w publikacji 3 w planowaniu badań, rejestrowaniu danych, oraz w publikacji 4 w weryfikacji uzyskanych wyników.

Charakterystyka publikacji tworzących rozprawę

Publikacja 1: Marek Kijonka, Damian Borys, Krzysztof Psiuk-Maksymowicz, Kamil Górczewski, Piotr Wojcieszek, Bartosz Kossowski, Artur Marchewka, Andrzej Świerniak, Maria Sokół, Barbara Bobek-Billewicz, Whole Brain and Cranial Size Adjustments in Volumetric Brain Analyses of Sex-and Age-Related Trends, *Frontiers in neuroscience*, 03 April 2020, <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00278>.

W pracy tej, dla zbioru danych numer 1 dokonano analiz wolumetrycznych struktur mózgu oraz przebadano ich zależności statystyczne od wieku i płci. Badane były następujące struktury mózgowe, struktury ogólne: istota szara (GM), istota biała (WM), płyn mózgowo-rdzeniowy (CSF), struktury podkorowe: hipokamp (HIP), skorupa (PUT), wzgórze (THA), jądro ogoniaste (CAU), gałka biała (PAL), ciało migdałowate (AMY), jądro półleżące (ACC). Struktury te zostały wysegmentowane z obrazów MR z wykorzystaniem odpowiednio dobranych pakietów oprogramowania do analiz wyników obrazowania biomedycznego, SPM, FSL-FIRST. Na tej podstawie badano statystyki objętości struktur mózgowych w polskiej populacji. Ważnym aspektem planu badawczego były porównania wyników analiz dla trzech

różnych wariantów, wariant pierwszy to objętości nienormalizowane, wariant drugi to objętości normalizowane do całkowitej objętości wewnątrzczaszkowej (ICV, suma objętości istoty szarej, istoty białej i płynu mózgowo – rdzeniowego), wariant trzeci to objętości normalizowane do całkowitej objętości mózgowia (TBV, suma objętości istoty szarej i istoty białej). Dla każdego z trzech wariantów w publikacji przedstawione są rysunki (figure 5, figure 6, figure 7) przedstawiające wykresy zależności modeli liniowych opisujących objętości struktur mózgu w zależności od wieku. Modele te są liczone oddzielnie dla mężczyzn i kobiet. Z kolei w tabelach 2, 4 i 5 przedstawione są wartości współczynników modeli GLM dla objętości struktur mózgowych wyznaczone w trzech wersjach modelowych. Wersja pierwsza (tabela 2) to modele GLM, dla których zmiennymi objaśniającymi są wiek, płeć oraz zmienna opisująca interakcję wieku i płci. Wersja druga (tabela 4) to modele GLM, dla których zmiennymi objaśniającymi są zmienne z tabeli 2 z dodatkowo dodaną zmienną ICV. Wreszcie wersja trzecia (tabela 5) to modele GLM, dla których zmiennymi objaśniającymi są zmienne z tabeli 2 z dodatkowo dodaną zmienną TBV. Dodatkowo, w tabeli 3 przedstawione są współczynniki modeli GLM opisujących zależności zmiennych wyjściowych TBV oraz ICV od zmiennych objaśniających wiek, płeć oraz ich interakcji.

Na podstawie wykonanych obliczeń autorzy publikacji wyciągają wnioski dotyczące porównania stosowanych metod normalizacji danych obrazowych rezonansu magnetycznego mózgu, TBV oraz ICV. Weryfikują także relacje pomiędzy cechami objętościowymi regionów mózgowych a wiekiem, dla różnych płci.

Publikacja 2: Damian Borys, Marek Fryderyk Kijonka, Krzysztof Psiuk-Maksymowicz, Kamil Gorczewski, Lukasz Zarudzki, Maria Sokol, Andrzej Swierniak, Non-parametric MRI Brain Atlas for the Polish population, *Frontiers in Neuroinformatics*, 06 October 2021, <https://doi.org/10.3389/fninf.2021.684759>

W publikacji tej wykorzystywano ten sam zbiór danych eksperymentalnych co w publikacji 1. Wykorzystywano i analizowano stosowane w literaturze dotyczące obrazowania mózgu pojęcia atlasu mózgowia oraz map prawdopodobieństwa struktur/tkanek mózgowych. Analizowano rozkłady populacyjne struktur mózgowych, GM, WM i CBF. Stanowiło to rozszerzenie w stosunku do poprzednich publikacji, poświęconych jedynie klasie tkanek GM. Dla posiadanych danych obserwacyjnych wykorzystano narzędzie obliczeniowe ANT (zawierające procedury do przetwarzania danych neuroobrazowych) do uzyskania ustandaryzowanych przestrzennie map. Dokonywano segmentacji i wyznaczano mapy prawdopodobieństwa struktur/tkanek. Schemat prowadzonych obliczeń jest przedstawiony na rysunku 1 (figure 1). Na rysunkach 3, 4, 5 (figure 3, 4, 5) przedstawiono mapy median dla wybranych przekrojów, odpowiednio dla istoty szarej (rys 3), istoty białej (rys. 4) oraz płynu rdzeniowo mózgowego (rys. 5) oraz histogramy otrzymane dla danych populacyjnych, dla kilku wybranych punktów. Obserwowane histogramy bardzo silnie odbiegają od rozkładów normalnych. Na rysunku 6 (figure 6) przedstawiono (w postaci map ciepła) wykresy skośności, kurtozy oraz p-wartości testu Shapiro – Wilka, dla istoty szarej,

istoty białej oraz dla płynu rdzeniowo – mózgowego, wynikające z wyników przedstawionych na poprzednich rysunkach (rys. 3, 4, 5). Podobnie, na podstawie wyników przedstawionych na rys. 3, 4, 5 opracowano nieparametryczne (bazujące na medianach) mapy mózgowe dla pięciu podpopulacji populacji polskiej. Ich graficzne przedstawienie znajduje się na rysunku 8 (figure 8).

Publikacja 3: Agnieszka Skorupa, Łukasz Boguszewicz, Marek Kijonka, Maria Sokół, Metabolic heterogeneity of the normal human brain: multivariate analysis of 1H MRS in vivo spectra acquired at 3T, *Metabolomics*, (2017), 13(4), DOI: 10.1007/s11306-017-1171-5.

W pracy tej analizowano dane uzyskane w ramach projektu eksperymentalnego numer 2. Na bazie wyników tego eksperymentu badano zmienność populacyjną metabolitów mózgu w populacji polskiej. Badane metabolity to kwas asparginowy (NAA), kreatynina (Cr), cholina (Cho), inozytol (Ins) oraz glutamina (Glx). Do analizy protonowych widm rezonansu magnetycznego (in vivo) wykorzystano oprogramowanie LCMoDel. Stężenia metabolitów były wyznaczane oddzielnie dla różnych struktur/tkanek mózgu. Następnie dokonywano analiz porównawczych stężeń metabolitów metodami analizy jednoczynnikowej ANOVA oraz analizy wielowymiarowej PCA oraz PLS-DA.

Publikacja 4: Łukasz Boguszewicz, Ewa Jamroz, Mateusz Cizek, Ewa Emich-Widera, Marek Kijonka, Tomasz Banasik, Agnieszka Skorupa, Maria Sokół, NMR-based metabolomics in pediatric drug resistant epilepsy – preliminary results, 2019, *Scientific Reports*, 9, Article number: 15035 (2019).

Publikacja ta bazuje na projekcie badań eksperymentalnych numer 3. Wykorzystując techniki spektroskopii rezonansu magnetycznego badano spektra metabolitów w surowicy krwi w grupie dzieci chorych na epilepsję oraz w grupie kontrolnej (dzieci z niewielkimi problemami neurologicznymi). Dokonano korekty zmienności stężeń metabolitów ze względu na wiek. Znalezione grupę czterech metabolitów, choliny, mleczanów, mrówczanu oraz metylosulfonylometanu, dla których występują istotne statystycznie zależności od wieku dzieci. Po korekcji wyznaczono grupę metabolitów, których poziom w surowicy krwi różnił się u dzieci z epilepsją w stosunku do grupy referencyjnej.

Najważniejsze osiągnięcia rozprawy

Najważniejszymi oryginalnymi osiągnięciami przeprowadzonych prac, są w mojej ocenie:

1. Zaplanowanie i przeprowadzenie trzech oryginalnych projektów eksperymentalnych, technikami magnetycznego rezonansu jądrowego, zarejestrowanie dużych zbiorów danych pacjentów oraz grup kontrolnych.
2. Zaplanowanie odpowiednich potoków/scenariuszy analiz danych obrazowania rezonansu magnetycznego mózgu in vivo. Dobranie odpowiednich narzędzi obliczeniowych. Rejestracja i weryfikacja wyników.

3. Zaplanowanie i wykonanie analiz biostatystycznych uzyskanych wyników. Sformułowanie wniosków wynikających z zastosowanych modeli i testów.
4. Zaplanowanie procedur analiz danych spektroskopii rezonansu magnetycznego surowicy krwi, in vitro. Dobranie odpowiednich technik obliczeniowych i modelowania statystycznego. Sformułowanie wniosków z przeprowadzonych prac.
5. Opublikowanie wyników badań w renomowanych czasopismach naukowych.

Uwagi dyskusyjne

Poniżej przedstawione uwagi dyskusyjne/pytania są jednocześnie tematami, które chciałbym przedyskutować z doktorantem w trakcie obrony pracy.

Uwagi ogólne:

1. Doktorant wspomina o różnicach rozkładów parametrów wolumetrycznych struktur mózgu pomiędzy populacjami. Czy w odniesieniu do cytowanej literatury doktorant mógłby scharakteryzować różnice w rozkładach pomiędzy populacją polską a innymi populacjami?
2. W publikacjach wchodzących w skład pracy używane są różnorodne narzędzia obliczeniowe do przetwarzania wyników pomiarowych rezonansu magnetycznego, FSL, SPM, FIRST, MINC, ANT – do danych obrazowania magnetycznego rezonansu jądrowego, LCMoDel, BIU – do analiz poziomów metabolitów w eksperymentach in vivo, Topspin, AMIX – do profili metabolicznych w eksperymentach in vitro. Czy doktorant mógłby przedstawić kryteria, którymi kierowano się dobierając narzędzia analizy obliczeniowej? Czy istnieją alternatywne programy komputerowe / narzędzia obliczeniowe, do zastosowanych w publikacjach związanych z pracą? Czy da się przedstawić jakieś porównania?

Publikacja 1:

1. W omówieniu tej publikacji doktorant stwierdza, że normalizacja do TBV lub ICV znacznie zwiększa moc statystyczną morfometrii mózgu. Czy doktorant może poprzeć to stwierdzenie jakimiś wskaźnikami (testami) statystycznymi?
2. W publikacji oraz jej omówieniu doktorant dyskutuje różnice pomiędzy zależnościami objętości struktur mózgowych od wieku obserwowanymi u kobiet i mężczyzn. Czy do opisu/kategoryzacji tych różnic może być zastosowany odpowiednio dobrany test statystyczny?
3. Dlaczego na rysunku 5 (figure 5) brakuje wykresu zależności objętości WM od wieku?

Publikacja 2:

1. Czy doktorant mógłby bliżej scharakteryzować potoki/scenariusze obliczeniowe prowadzące do wyliczenia wyników w tabelach 3, 4, 5? W jaki sposób dane o nieparametrycznych rozkładach (rozkładach odbiegających od rozkładu normalnego) były przetwarzane w programie ANT?
2. Czy w aspekcie wyników przedstawionych w tabelach 4 i 5 doktorant mógłby skomentować poprawność wyników publikacji 1?

Publikacja 3:

1. W pracy wspomina się o analizie jednoczynnikowej ANOVA dla oceny zmienności poziomów metabolitów pomiędzy strukturami/regionami mózgu. Czy doktorant mógłby bardziej szczegółowo omówić wyniki tej analizy (jakie różnice się obserwuje)?

Publikacja 4:

1. Czy dla analizy poziomów metabolitów wykorzystywanych w pracy można stosować metody spektrometrii mas? Czy doktorant mógłby porównać wady i zalety dwóch technik eksperymentalnych do pomiaru poziomów metabolitów (spektrometria protonowa NMR oraz spektrometria mas)?
2. W omówieniu publikacji doktorant pisze „Dla wyznaczenia przebiegu normatywnego w grupie referencyjnej przebieg zmienności tych parametrów został wyestymowany modelami nieliniowymi metodą najmniejszych kwadratów”. Czy doktorant mógłby bliżej opisać tą metodę?

Konkluzja

Praca stanowi podsumowanie oryginalnych badań naukowych, w których formułowano i weryfikowano oryginalne hipotezy badawcze. Zrealizowano oryginalny plan badań naukowych, sformułowano i opublikowano oryginalne wnioski.

Zrealizowanie planów badawczych i sformułowanie wyników wymagało zaangażowania, pomysłowości i pasji naukowej, którymi wykazał się doktorant. Warto także nadmienić, że w swoim dorobku doktorant posiada szereg innych oryginalnych i wartościowych prac naukowych, opublikowanych w znaczących czasopismach, które nie zostały włączone do rozprawy.

Osiągnięcia i oryginalne elementy rozprawy są na pewno wystarczające do jej ogólnej pozytywnej oceny. Stwierdzam, że rozprawa spełnia warunki aktualnie obowiązującej Ustawy o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym i wnioskuję o jej dopuszczenie do publicznej obrony.

