

Warszawa, 16 grudnia 2020

Stefan Gaździński
Środowiskowa Pracownia Nowych Zastosowań
Diagnostycznych Jądrowego Rezonansu Magnetycznego
Wojskowy Instytut Medycyny Lotniczej
ul. Krasińskiego 54/56
01-755 Warszawa

Recenzja

rozprawy doktorskiej **mgr Michała Goneta** pt. „Obrazowanie metodą elektronowego rezonansu paramagnetycznego in vivo w badaniach nowotworów korejestrowane z innymi technikami obrazującymi”, wykonanej pod kierunkiem dr hab. Martyny Elas, prof. UJ.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Zakładzie Biofizyki Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Celem pracy jest rozwój metodologii obrazowania EPRI oraz sprawdzenie skuteczności otrzymanych rozwiązań w modelach zwierzęcych, jak również korejstracja obrazów EPRI z obrazami USG przy pomocy specjalnie zaprojektowanych i wydrukowanych uchwytów korejstracyjnych. Część wyników zawartych w rozprawie została już opisana w następujących trzech publikacjach:

[1]. Gonet, M., M. Baranowski, T. Czechowski, M. Kucinska, A. Plewinski, P. Szczepanik, S. Jurga and M. Murias (2020). "Multiharmonic electron paramagnetic resonance imaging as an innovative approach for in vivo studies." *Free Radical Biology and Medicine* 152: 271-279.

[2]. Gonet, M., B. Epel, H. J. Halpern and M. Elas (2019). "Merging Preclinical EPR Tomography with other Imaging Techniques." *Cell Biochemistry and Biophysics* 77(3): 187-196.

[3]. Gonet, M., B. Epel, and M. Elas, Data processing of 3D and 4D in-vivo electron paramagnetic resonance imaging co-registered with ultrasound. 3D printing as a registration tool, *Comput Electr Eng.* 2019, 74: 130-137.

Rozprawa składa się ze streszczenia, trzech rozdziałów, podsumowania, spisu najczęściej występujących skrótów, bibliografii, spisu rysunków, spisu równań, spisu tabel i załącznika. Rozprawa zawiera 48 rysunków, 30 równań, 11 tabel oraz dziewięć programów w języku Matlab służących do analizy danych i program dla drukarki 3D do wydrukowania uchwytu korejestracyjnego dla myszy. Bibliografia zawiera 205 pozycji.

Biorąc pod uwagę znaczący dorobek publikacyjny mgr Michała Goneta optymalnym rozwiązaniem byłoby, gdyby jego rozprawa doktorska składała się z wymienionych powyżej artykułów opatrzonych wstępem, opisem jeszcze nieopublikowanych wyników oraz dyskusją. Mgr Gonet wybrał jednak inne rozwiązanie. W dwóch pierwszych rozdziałach otrzymujemy „rodzaj przewodnika postępowania podczas eksperymentów EPRI in vivo” wraz z rozszerzonym opisem opublikowanych już artykułów naukowych. Niestety odnośniki do artykułów są mało wyeksponowane i łatwo je przy szybkim czytaniu pominąć. To bardzo utrudnia dostrzeżenie znaczenia wyników zawartych w rozprawie doktorskiej.

Pierwszy rozdział zawiera opis podstaw teoretycznych spektroskopii EPR i NMR. Pokazano tam, że chociaż EPR i NMR bazują na analogicznych podstawach fizycznych i zostały wykryte mniej więcej w tym samym czasie, to jedynie obrazowanie techniką rezonansu magnetycznego znalazło szerokie zastosowanie w badaniach klinicznych i przedklinicznych. Wynika to z trudności rejestracji sygnału EPR, niskiej głębokości penetracji tkanek przez fale elektromagnetyczne stosowane w EPR, a także konieczności korzystania z tzw. sond spinowych, czyli wstrzykiwania do ciała substancji paramagnetycznej. Jest to poważne utrudnienie w przypadku badań klinicznych z udziałem ludzi. Pomimo podobieństwa pierwszych spektrometrów do pomiarów EPR i NMR ich rozwój poszedł w zupełnie innych kierunkach. Z powodu o kilka rzędów wielkości krótszych czasów relaksacji dla elektronów (EPR), w porównaniu z protonami (NMR), w EPRI nie był możliwy rozwój metod impulsowych, który doprowadził do obecnego sukcesu metod związanych z NMR.

Następnie w rozdziale 1 przedstawiony jest zarys teorii obrazowania EPRI, gdzie opisano zasady otrzymywania, rekonstrukcji obrazów oraz informacje o budowie i wymaganiach stawianych przed sondami spinowymi, a także ich zastosowaniach. Zarysowane są również szczegóły „zestrajania” aparatury, zależność głębokości penetracji fali elektromagnetycznej od częstotliwości pracy rezonatora czy wymagane relacje pomiędzy szerokością linii sondy spinowej a rozdzielczością obrazów, czy amplitudą modulacji. Wyjaśniono konieczność stosowania obrazów referencyjnych, umożliwiających odnoszenie mierzonych zmian w obrazach EPRI do obrazów zawierających informacje anatomiczne. Ponieważ obrazy anatomiczne pochodzą z innych modalności obrazowania, stosuje się tzw. markery korejestracyjne.

Podstawy teoretyczne przedstawione są w sposób prosty i intuicyjny, aczkolwiek fizyk (biofizyk) może odczuć pewien niedosyt szczegółów matematycznych. Np. opis dekonwolucji (str 33) oparty jest na pracy Denga i in (MRM 50:444-448, 2003). W opisie, który znalazł się w rozprawie doktorskiej, brakuje istotnej informacji, że $p(s)$ (równanie 1.15 na str 33) jest widmem EPR zmierzonym w obecności pola magnetycznego (informacja ta znajduje się w opisie rysunku 1.7, przez co jest nieczytelna). Autor nie ustrzegł się drobnych pomyłek, takich jak niewłaściwy argument całkowania we wzorze 1.16 na str 34; argumentem całkowania powinno być dw , a nie ds .

Podsumowując, rozdział 1 może być wykorzystany w charakterze edukacyjnym dla osób niezaznajomionych z techniką spektroskopii i obrazowania EPRI. W szczególności temu zastosowaniu sprzyjają bogate i proste ilustracje. Niestety w podsumowaniu nie zebrano wszystkich ograniczeń metody obrazowania EPRI, które doprowadziły do proponowanych w późniejszych rozdziałach rozwiązań.

Rozdział 1.8 podsumowujący „cele pracy i organizację rozprawy” niepotrzebnie zaczyna się od hipotezy. Celem pracy była realizacja celów szczegółowych przedstawionych w tym rozdziale (str 61). Hipoteza badawcza w rozprawie mgr Michała Goneta nie jest konieczna. Ponadto spis celów szczegółowych pracy powinien znaleźć się w streszczeniu (abstrakcie), a nie w środku pracy, jak to ma miejsce.

Drugi rozdział przedstawia walidację i optymalizację parametrów algorytmów rekonstrukcyjnych w oparciu o symulowany fantom Sheppa-Logana. Optymalizacja parametrów

rekonstrukcyjnych oparta jest o błąd średniokwadratowy (MSE) wartości pikseli/wokseli. W ten sposób zostaje wyznaczona optymalna wartość częstotliwości odcięcia filtru górnoprzepustowego Ram-Lak oraz dolnoprzepustowego. Symulacja MSE i szerokości linii w zależności od liczby projekcji i zaszumienia obrazu pozwala na optymalizację schematu akwizycji. Nie podano, jakiego rodzaju szumu użyto w symulacjach.

Słabą stroną rozdziału jest brak odniesienia do eksperymentów, które opisane zostają dopiero w rozdziale trzecim. Teoretyczne podstawy symulacji mogły się znaleźć w rozdziale 1, natomiast ich wyniki przy poszczególnych eksperymentach opisanych w rozdziale 3. W ten sposób łatwiej byłoby zrozumieć cel poszczególnych symulacji.

Z treści rozdziału nie wynika jasno, w jakim celu powstał program cRECOv. W jakim zakresie uzupełnia on oprogramowanie dostępne na urządzeniach Bruker? Czy jest kompatybilny z urządzeniem firmy Novilet? W jaki sposób można wejść w posiadanie tego programu? W artykule dotyczącym rejestracji widm EPRI z obrazami USG [3], domyślam się, program cRECOv został przedstawiony jako „home built EPRI toolbox”. Może warto byłoby poświęcić mu niezależną publikację?

W rozdziale trzecim zostały opisane największe osiągnięcia mgr Michała Goneta, które opisane są w wyżej cytowanych publikacjach. Niestety odnośniki do tych publikacji nie zostały odpowiednio uwytatnione, przez co trudniej zauważyć znaczenie uzyskanych wyników.

W podrozdziale 3.1 oraz w pracy [1] opisano zastosowanie metodologii analizy multiharmonicznej, opracowanej w laboratorium grupy Garetha Eatona w Denver (USA), do zwiększenia sygnału do szumu w (eksperymentalnym) urządzeniu Novilet ERI TM600 (Poznań, Polska). Na podstawie analiz z wykorzystaniem fantomu wyznaczono liczbę użytecznych harmonicznych, powyżej której zarówno szerokość linii, jak i S/N nie ulegają zmianie. Umożliwiło to analizę danych w czasie rzeczywistym.

Zastosowanie tej metody przełożyło się na szybsze przetwarzanie danych w trakcie akwizycji, a tym samym na obserwację procesów o czasie trwania rzędu kilku, kilkunastu sekund. Dodatkowo metodologię tę udało się po raz pierwszy wykorzystać do obrazowania w organizmie żywym. Wykorzystanie analizy multiharmonicznej pozwoliło na uzyskanie zestrojonego widma pomimo odstrajania się rezonatora w wyniku drobnych ruchów zwierzęcia spowodowanych przez

oddech i bicie serca. Takie zestrzajanie widma nie byłoby możliwe w przypadku zastosowania klasycznej metody fali ciągłej. Uzyskany wynik jest pierwszym w świecie, co podkreśla skalę osiągnięć mgr Michała Goneta.

W podrozdziale 3.2 opisano wyznaczenie dynamiki napływu i wypływu sondy spinowej z organizmu myszy za pomocą techniki Rapid Scan, która ma rozdzielczość czasową 4.5s. Taka rozdzielczość czasowa pozwala na dopasowanie modeli matematycznych opisujących tę dynamikę. Modele te nie zostały niestety jasno opisane. Nie zostało wyjaśnione znaczenie fizyczne części parametrów. Wykazano różnice w czasach napływu i wypływu dla zdrowego mięśnia, mięśnia z guzem, nerek, a także dla zawartości pęcherza moczowego. Wyniki nie zostały jeszcze opublikowane.

Z kolei w podrozdziale 3.3 oraz w artykule [3] opisana jest stworzona przez mgr Michała Goneta procedura rejestracji obrazów EPRI fali ciągłej z obrazami USG oraz przedstawione są wyniki obrazowania dla mysiego modelu nowotworu płuc Lewis Lung Carcinoma. Kluczem do sukcesu okazało się zastosowanie znaczników korejestracyjnych z nałożonymi na nie plastikowymi rurkami, co znacząco zredukowało odbicia fali ultradźwiękowej i nie generowało artefaktów charakterystycznych dla szkła. Dodatkowo wytworzono uchwyt korejestracyjny z wykorzystaniem techniki drukowania 3D. Dodać należy, że to również jest pierwsze tego typu osiągnięcie na świecie.

Podsumowując, mgr Michał Gonet realizował badania oraz rozwijał/adaptował metody analizy numerycznej uzyskanych wyników. We wszystkich publikacjach mgr Michał Gonet figuruje jako pierwszy autor, co oznacza, że to właśnie on wykonywał największą ilość pracy związanej z publikacją doniesień naukowych, na których oparta jest recenzowana rozprawa doktorska.

Wnioski końcowe

Praca doktorska mgr Michała Goneta pt. „Obrazowanie metodą elektronowego rezonansu paramagnetycznego in vivo w badaniach nowotworów korejestrowane z innymi technikami obrazującymi” jest przeglądem znaczącego wkładu mgr Michała Goneta w rozwój techniczny metody EPRI oraz EPRI+USG. Oparta jest na trzech publikacjach w czasopiśmie z Listy

Filadelfijskiej. Należy tu podkreślić, że te osiągnięcia posiadają potencjał komercjalizacyjny. Metoda analizy wyższych harmonicznych została zaimplementowana na tomografie ERI TM600 firmy Novilet, Polska.

Wprawdzie napisana rozprawa posiada nieznaczne braki, ale uważam, że oceniane powinny być przede wszystkim osiągnięcia mgr Michała Goneta oraz publikacje naukowe, które są na bardzo wysokim poziomie. Praca pod względem struktury formalnej jest starannie dopracowana. Układ rozprawy i struktura jej podziału jest prawidłowa, z wyodrębnieniem streszczenia w języku polski i angielskim, wstępu, opisu metodologii badań spektroskopii EPR i obrazowania metodą EPRI, opisu metod rekonstrukcji obrazów, celu pracy, wyników, podsumowania oraz zakresienia perspektyw.

Stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska mgr Michała Goneta dowodzi ogólnej wiedzy teoretycznej i umiejętności samodzielnego prowadzenia badań naukowych. W pełni spełnia wymogi art. 13, ustęp 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (DZ.U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami), w związku z tym wnoszę o dopuszczenie mgr Michała Goneta do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne. W związku z uzyskaniem dwóch osiągnięć na skalę światową wnoszę o wyróżnienie pracy.

Warszawa, 16.12.2020

