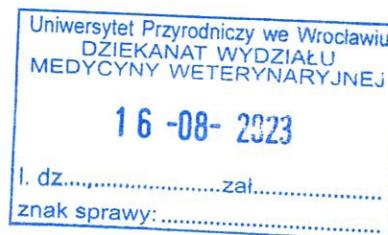


Prof. dr hab. Marek Galanty
Katedra Chorób Małych Zwierząt i Klinika
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
SGGW, Warszawa

Warszawa, dnia 07.08.2023



RECENZJA

pracy doktorskiej lek. wet. Karoliny Owsieńskiej Schmidt
pt. „Dynamika zmian rdzenia kręgowego w obrazowaniu tensora dyfuzji (DTI) na
modelu zwierzęcym ”

wykonanej pod kierunkiem dr hab. Marcina Wrzoska prof. UP we Wrocławiu
oraz dr hab. Anny Zimny prof. UM we Wrocławiu
w Katedrze Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów na Wydziale Medycyny
Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu

Podstawą wykonania recenzji jest uchwała Rady Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu
Przyrodniczego we Wrocławiu z dnia 27 czerwca 2023 roku

W przypadku obrażeń rdzenia kręgowego kluczowa jest obiektywna ocena jego uszkodzenia. Obecnie w takich przypadkach rutynowo jest przeprowadzane obrazowanie tych zmian za pomocą TK, czy też MRI. Jednak mimo stosowania coraz powszechniej tych metod obrazowania wciąż istnieją trudności z określeniem lokalizacji i stopnia uszkodzenia rdzenia kręgowego. Metody te posiadają umiarkowaną czułość w detekcji uszkodzeń rdzenia kręgowego, nie zawsze korelują z obrazem klinicznym pacjentów, czy wynikami badań histopatologicznych. Naprzeciw tym oczekiwaniom wychodzi nowoczesna metoda obrazowania strukturalnego rdzenia kręgowego z wykorzystaniem tensora dyfuzji (DTI) umożliwiającego obiektywną ocenę mikrostruktury rdzenia kręgowego. W ostatnich kilku

latach wzrosło zainteresowanie wykorzystaniem tej metody do oceny zmian w chorobach OUN, dostarczającej do klasycznych obrazów MRI ilościowej informacji o stanie tkanki nerwowej. Oczekuje się, że obrazowanie z wykorzystaniem tensora dyfuzji (DTI) w niedalekiej przyszłości będzie wykorzystywane w diagnostyce, wyborze sposobu leczenia oraz śledzeniu procesów regeneracji i przebudowy pacjentów z chorobami rdzenia kręgowego.

W tych okolicznościach cieszy wybór przez Doktorantkę aktualnego tematu badawczego o wysokich walorach poznawczych a także potencjalnych możliwościach aplikacyjnych jakim jest określanie wartości referencyjnych parametrów DTI dla nieuszkodzonych rdzeni kręgowych u rosnących świń, oraz ocena zmian DTI u psów z kompresją rdzenia kręgowego. DTI opiera się na przyżyciowym pomiarze dyfuzji cząsteczek wody w tkance. Z uwagi na to, że tkanka nerwowa cechuje się uporządkowaną budową, charakteryzuje się wysoką wartością współczynnika frakcjonowanej anizotropii (FA) doskonale nadaje się do oceny zaburzeń dyfuzji metodą DTI. U podstaw techniki leży fakt, że dyfuzja nie jest chaotyczna, a ograniczona i kierunkowa, szczególnie w tak uporządkowanej strukturze jaką jest nieuszkodzona tkanka nerwowa.

Autorka zdecydowała oceniać dwa główne parametry DTI tzn. wielkość dyfuzji wody w objętości tkanki współczynnik dyfuzji - ADC (apparent diffusion coefficient,) oraz stopień ukierunkowania ruchu cząsteczek wody czyli tzw. frakcjonowana anizotropia - FA. Należy zaznaczyć, że ten sposób zastosowania DTI w ocenie stanu rdzenia kręgowego u świń nie był do tej pory opisany w literaturze.

Praca lek. wet. Karoliny Owsieńskiej Schmidt liczy 105 stron tekstu wraz 5 tabelami i 23 rycinami. Układ dysertacji jest zgodny z wymaganiami stawianymi rozprawom doktorskim i zawiera wszystkie wymagane rozdziały w tym: spis treści wykaz skrótów, jednobrzmiące streszczenia w języku polskim i angielskim, wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusję, podsumowanie, wnioski, spis tabel i rycin, wykaz 177 publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej. W tym miejscu warto podkreślić, że w liczbie tej znalazło się 50 pozycji opublikowanych od 2020 roku i 11 publikacji które ukazały się w obecnym 2023 roku (w tym z własną publikacją z przeprowadzonych badań, dołączoną do monografii).

Tytuł pracy jasno precyzuje przedmiot rozprawy w zakresie prowadzonych badań. Praca rozpoczyna się wprowadzeniem, w którym Autorka naświetliła problematykę związaną występowaniem uszkodzeń rdzenia kręgowego u ludzi i zwierząt. Następnie przedstawiła możliwości rozpoznawania uszkodzeń rdzenia z wykorzystaniem konwencjonalnych jak i nowoczesnych metod obrazowania, z uwzględnieniem biomarkerów w ocenie ciężkości i rozległości obrażeń rdzenia kręgowego. Autorka zaprezentowała aktualne możliwości leczenia

z omówieniem znaczenia wczesnej dekompresji chirurgicznej rdzenia, sterydo-, baro- i tlenoterapii, stosowania leków neuroprotektoryjnych, czy też neuroregeneracji. W tym rozdziale Doktorantka uwidoczniła potencjalne trudności związane z doбором optymalnych metod leczenia zaznaczając, że w tym temacie konieczne jest precyzyjne zdefiniowanie rodzaju i lokalizacji obrażeń w oparciu o nowoczesne metody obrazowania z wykorzystaniem tensora dyfuzji (DTI) umożliwiającego ocenę mikroarchitektury rdzenia kręgowego.

Na podstawie przeglądu starannie dobranego piśmiennictwa Autorka sformułowała cel badawczy jakim była nieinwazyjna ocena zmian mikrostruktury rdzenia kręgowego przy użyciu zaawansowanej techniki obrazowania rezonansem magnetycznym – tensora dyfuzji (DTI) – na dwóch grupach zwierząt tzn. u zdrowych świń z rosnącym rdzeniem kręgowym oraz u psów z chorobą kompresyjną rdzenia kręgowego w przebiegu spontanicznej przepukliny krążka międzykręgowego.

Z opisu materiałów i metod wynika, że badania były przeprowadzone prawidłowo. Wszystkie etapy prac zostały szczegółowo opisane a ich wyniki dobrze i przejrzysto udokumentowane. Wystarczająco szczegółowo opisane są warunki utrzymania i żywienia świń, procedury przygotowania zwierząt do zabiegów (znieczulenie ogólne) oraz technika wykonywania badania DTI. Do przeprowadzenia pierwszego projektu badawczego Autorka uzyskała zgodę Lokalnej Komisji Etycznej (LKE) we Wrocławiu (nr 87/2017). Do przeprowadzenia drugiej części badań zgoda ta nie była potrzebna.

Cel pracy zrealizowano poprzez badania na rdzeniu kręgowym w dwóch odrębnych grupach badawczych tzn. na 19 zdrowych, rosnących świniach i 9 chorych psach ze stwierdzoną kompresją rdzenia kręgowego. W pierwszej grupie badawczej parametry DTI badano z uwzględnieniem wieku i masy ciała świń. Wartości DTI mierzono w trzech grupach wagowych: do 29 kg, 30–59 kg i ponad 60 kg m.c. Badanie DTI przeprowadzono za pomocą skanera rezonansu magnetycznego 1,5 Tesli (Philips, Ingenia). Analizę obrazu wykonano z wykorzystaniem pakietu Fiber Track (stacja robocza Philips Ingenia) ręcznie rysując obszary zainteresowania (ROI). Pomiary rejestrowano dla trzech przekrojów tzn. w odcinku szyjnym, piersiowo-lędźwiowym i lędźwiowym rdzenia kręgowego na poziomie C4/C5, Th13/L1, i L4/L5. Ponadto w każdym przypadku jeden segment mierzono dogłównie, a drugi doogonowo z wyżej wymienionych miejsc.

W drugiej grupie badawczej oceniano parametry DTI u 9 psów z rozpoznaną kompresją rdzenia kręgowego. Podobnie jak u świń badanie MRI wykonano skanerem o indukcji pola 1,5T bezpośrednio przed i 10-14 dni po operacji. Parametry DTI były mierzone analogicznie jak u świń w trzech miejscach: miejscu kompresji oraz jeden segment doczaszkowo i jeden segment

doogonowo od miejsca uszkodzenia rdzenia kręgowego. W trakcie badań oceniono stan neurologiczny przed i po operacji w celu określenia korelacji z obrazem DTI. W obu grupach w ocenie DTI uwzględniono wartości frakcjonowanej anizotropii (FA) i współczynnika dyfuzji (ADC).

Rozdział wyniki jest napisany zwięźle i czytelnie. Bogato ilustrowany (23 ryciny i 5 tabel) zawiera wyczerpujące opisy obserwacji zebranych z doświadczeń. W tym rozdziale dowiadujemy się między innymi o korelacji między wiekiem oraz masą ciała a parametrami DTI, polegającą na obniżeniu wartości ADC i zwiększeniu FA wraz z wiekiem i przyrostem masy ciała zdrowych świń. Obserwacja ta jest cenna ze względu na odwrotną korelację w/w parametrów jaką inni badacze obserwowali w miejscu uszkodzenia rdzenia kręgowego.

Ważne są także wyniki badań uzyskane w grupie psów z kompresją rdzenia kręgowego, u których po operacji stwierdzono zmniejszenie wartości FA i zwiększenie ADC w miejscu uszkodzenia oraz obniżenie wartości ADC doogonowo od miejsca uszkodzenia rdzenia kręgowego. W ten sposób Doktorantka wykazała, że spadek wartości FA skorelowany jest z dezintegracją włókien istoty białej, zachodzącą w przebiegu uszkodzenia rdzenia, podczas gdy wzrost wartości ADC sugeruje proces demielinizacyjny. Obserwacja ta wskazuje, że DTI jest wiarygodnym narzędziem umożliwiającym obiektywną ocenę stanu rdzenia kręgowego.

Szczególnie interesująca jest wszechstronna dyskusja w której Autorka na podstawie przemyśleń własnych oraz informacji zaczerpniętych z licznych pozycji literatury omówiła uzyskane wyniki badań, starając się znaleźć dla nich odpowiednie uzasadnienie, podkreślając ich przydatność i znaczenie kliniczne. Ten obszerny liczący 21 stron rozdział (wraz z podsumowaniem) dowodzi o dobrym przygotowaniu Doktorantki. Analiza wyników potwierdza dużą przydatność DTI jako wskaźnika pośredniej oceny mikrostruktury rdzenia kręgowego. Jednocześnie Autorka przedstawiła ograniczenia tej metody wynikające z mierzenia dyfuzji wody starając się znaleźć dla nich odpowiednie uzasadnienie, a także możliwości ich zminimalizowania. Ponadto jak zaznaczyła Doktorantka ręczne rysowanie map w niedługim czasie może być zastąpione metodami cyfrowymi, czy też sztuczną inteligencją pozwalającą obiektywnie ocenić mikrostrukturę rdzenia kręgowego zarówno w aspekcie diagnostycznym, doboru optymalnej metody leczenia, jak również określenia rokowania. Przydatność prognostyczną badanej metody potwierdził przypadek jednego psa (nr 9), u którego nie zanotowano poprawy po operacji, i u którego parametry DTI zachowywały się odmiennie niż u pozostałych psów (u których nastąpiła poprawa po chirurgicznej dekompresji rdzenia kręgowego).

Praca została napisana poprawną polszczyzną, językiem zwięzłym komunikatywnym, chociaż Doktorantka nie ustrzegła się nielicznych uchybień stylistycznych i interpunkcyjnych. Praca jest pionierska pod względem dobranej metodyki i modelu zwierzęcia doświadczalnego, a pominięcie oceny innych parametrów DTI takich jak dyfuzyjność osiowa (AD), średnia dyfuzyjność (MD), czy też umieszczenie ROI w płaszczyźnie pośrodkowej sagittalnej nie umniejszyło dużej wartości pracy.

Uwagi krytyczne

Dla większej przejrzystości pracy wskazane byłoby ponumerowanie rozdziałów i podrozdziałów.

Brak jest informacji dotyczącej płci oraz ewentualnej kastracji świń użytych w pierwszym projekcie badawczym. Fakt kastracji wpływa na szybkość wzrostu i masy ciała – co stanowiło element badań.

Autorka podaje, że aby zagwarantować ochronę i dobrostan zwierząt biorących udział w badaniu, zastosowano zasadę 3R (ang. replacement, reduction, and refinement) – zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia. W pracy brak jest informacji w jaki sposób realizowano tę zasadę.

Na stronie 81 zamiast terminu hipreralgezji powinno być hyperalgezji.

Przedstawione na str. 34 dwa szczegółowe cele (nr 1 i 4) dotyczące oceny zmian poszczególnych parametrów tensora dyfuzji nie znalazły odzwierciedlenia we wnioskach.

Praca kończy się 5 wnioskami. Wszystkie są cenne i wynikają z przeprowadzonych badań, jednak o ile praca jest napisana poprawnie stylistycznie i językowo, to w opinii recenzenta wnioski są zbyt opisowe i wymagają przeredagowania.

Istotny jest wniosek pierwszy stanowiący o przydatności DTI w ocenie mikrostruktury rdzenia kręgowego z wykazaniem zmienności zależnie od „dojrzewania i starzenia organizmu”. W tym miejscu precyzyjniej byłoby napisać, że od wieku i masy ciała, jak to było opisane w materiałach i metodach, tym bardziej, że zwierzęta w momencie zakończenia badania były w okresie wzrostu i dojrzewania.

Jako cenne uważam wyznaczenie referencyjnych wartości parametrów DTI dla nieuszkodzonego, rosnącego rdzenia kręgowego u świń.

Ważny jest wniosek trzeci stanowiący o dużej przydatności badania w ocenie i lokalizacji uszkodzenia rdzenia kręgowego u psów. W tym miejscu warto podkreślić, że dołączenie badania DTI do procedur diagnostycznych może być pomocne w określeniu miejsc

uszkodzeń rdzenia kręgowego na poziomie mikrostrukturalnym w przypadku trudności z ich lokalizacją, co ułatwi korelację obrazu radiologicznego z objawami neurologicznymi pacjentów.

Z klinicznego punktu widzenia ważny jest także wniosek czwarty cyt: "Z przeprowadzonych przez nas badań wynika, że ze względu na proces reorganizacji dużych aksonów, zachodzący w momencie chirurgicznej dekompresji rdzenia kręgowego, pomiar parametrów DTI w epicentrum uszkodzenia może nie być miarodajny i należy uwzględnić to zjawisko przy interpretacji wyników" Proponuję by wniosek ten został zredagowany krócej np.: Proces reorganizacji dużych aksonów, zachodzący w trakcie i krótko po chirurgicznej dekompresji uszkodzenia rdzenia kręgowego, ogranicza przydatność badania DTI jako metody obrazowania w tym okresie.

Podobnie należałoby skrócić wniosek 5 brzmiący: „Dzięki przeprowadzeniu badania na dwóch modelach translacyjnych – nieuszkodzonego i spontanicznie uszkodzonego rdzenia kręgowego – nasze wyniki mogą być ekstrapolowane do medycyny człowieka i jednocześnie przyczyniają się do rozwoju medycyny weterynaryjnej” jest za długi i można z niego zrezygnować lub zredagować bardziej zwięźle np: Badania na dwóch modelach translacyjnych – zarówno zdrowego jak i spontanicznie uszkodzonego rdzenia kręgowego u zwierząt przyczyniają się do rozwoju medycyny weterynaryjnej i mogą być ekstrapolowane do medycyny człowieka.

Wniosek końcowy

Oceniając rozprawę doktorską lek. wet. Karoliny Owsieńskiej Schmidt stwierdzam, że jest ona pionierska pod względem dobranej metodyki i modelu zwierzęcia doświadczalnego, dużych walorów poznawczych i aplikacyjnych, w oparciu o poprawnie dobrany nowatorski warsztat badawczy. Autorka dowiodła przydatności (komplementarnych do klasycznych obrazów MRI) informacji obrazowania techniką DTI w pośredniej ocenie mikrostruktury rdzenia kręgowego u zdrowych, rosnących świń i chorych psów z kompresją rdzenia kręgowego. Uzyskane wyniki badań stanowią znaczący postęp zarówno w diagnozowaniu, doborze optymalnej metody leczenia, jak również określaniu rokowania chorób rdzenia kręgowego u zwierząt z możliwością ich ekstrapolowania do medycyny człowieka. Można oczekiwać, że wyniki te w niedalekiej przyszłości będą wykorzystane w rutynowych protokołach diagnostycznych i terapeutycznych u pacjentów z chorobami rdzenia kręgowego.

Mając powyższe na uwadze pragnę stwierdzić, że rozprawa doktorska pt. „Dynamika zmian rdzenia kręgowego w obrazowaniu tensora dyfuzji (DTI) na modelu zwierzęcym”

autorstwa lek. wet. Karoliny Owińskiej Schmidt w pełni spełnia wymagania stawiane pracom na stopień doktora nauk weterynaryjnych i w pełni odpowiada warunkom określonym w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2023 r. poz. 742).

Mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. wet. Karoliny Owińskiej Schmidt do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie z uwagi na dużą wartość poznawczą i aplikacyjną pracy wnioskuję o jej wyróżnienie.

A handwritten signature in blue ink, reading "Marek Galant". The signature is written in a cursive style with a long, sweeping tail.