

Recenzja
rozprawy doktorskiej pt. "Optymalizacja procedur badawczych w
biomedycznych zastosowaniach mikrotomografii komputerowej" mgr
Bartosza Mateusza Leszczyńskiego

Rentgenowska mikrotomografia komputerowa to szybko rozwijająca się dziedzina mająca potencjalne zastosowanie w analizie materiałowej zarówno w biomedycynie jak i w przemyśle. W medycynie technika ta umożliwia obrazowanie tkanek zmienionych chorobowo z wielokrotnie wyższą przestrzenną zdolnością rozdzielczą w porównaniu z tomografią kliniczną ze względu na wykorzystywanie do badań niewielkich próbek *ex vivo*. Jednakże badanie próbek biomedycznych wymaga optymalizacji procedury pomiarowej związanej ze specyfiką badanego materiału i to właśnie stanowi treść pracy doktorskiej p. Leszczyńskiego.

Rozprawa doktorska ma klasyczny układ; składa się z teoretycznego/literaturowego wprowadzenia do mikrotomografii poprzedzonego abstraktem w języku polskim i angielskim, spisem dorobku naukowego autora i krótkim wstępem prezentującym treść pracy. Główne rezultaty badań wraz z ich dyskusją i wnioskami zostały zawarte w trzech oddzielnych rozdziałach ze względu na zróżnicowany materiał badawczy, co przyczynia się do klarowności pracy. Rozprawa wraz z podsumowaniem, spisem literatury i spisem ilustracji oraz tabel liczy 130 stron.

Część teoretyczna pracy, szczególnie dotycząca metodologii mikrotomografii komputerowej, jest oparta na najnowszej literaturze i wnosi wiele interesujących informacji na temat zastosowań mikrotomografii w biomedycynie. W rozdziale trzecim autor dokładnie opisuje nowoczesny mikrotomograf zakupiony ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka (projekt

POIG.02.01.00-12-023/08) i przedstawia wyniki eksperymentów kalibracyjnych wykonanych przez siebie. Niewątpliwie osobiście wykonywane kalibracje przyczyniły się do dokładnego zapoznania się z aparaturą i pomogły autorowi w optymalizacji procedur badawczych dla wybranych grup materiałów biomedycznych realizowanych w ramach pracy doktorskiej.

Zainteresowania doktoranta skupiały się wokół parametrów morfometrycznych trzech rodzajów biomateriałów: tkanki kostnej kurcząt broilerów, mikrostruktury kosteczek słuchowych oraz struktury tkanki miękkiej w postaci świńskich gałek ocznych.

Celem badań kości 45 dniowych kurcząt broilerów Ross 308 było sprawdzenie, czy parametry morfometryczne kości piszczelowej - najdłuższej kości ptaków, różnią się ze względu na ubojową masę ciała. Badania przeprowadzono dla dwóch podgrup po 5 kurcząt: I-wszej o niższej masie, zbliżonej do średniej dla całego stada i dla II-giej o ponadprzeciętnej masie ciała (o około 560g większej). Brano pod uwagę trzy fragmenty objętości: VOI 1 – wypełniony całkowicie strukturą beleczkową kości, VOI 2 – z beleczkami kostnymi wokół jamy szpikowej, VOI 3 – w obszarze zbitej kości trzonu z górnej połowy kości, w których potencjalnie wzmożona aktywność metaboliczna mogła prowadzić do zaburzenia równowagi między procesem kościotwórczym a kościogubnym. Przed dokonaniem pomiarów morfometrycznych określono kryterium binaryzacji obrazu biorąc pod uwagę testy na fantomach uzyskane metodą lokalną *mean of min and max values* oraz metodą globalną Otsu, którą uznano za właściwą do badań mikrostruktury piszczeli kurcząt. Dokonano wizualizacji 3D odstępów między beleczkami kostnymi (St.Sp.) oraz średnic beleczek kostnych (St.Th) kości piszczelowych kurcząt o niskiej i wysokiej masie ciała. Przeprowadzono dokładną analizę rozkładów parametrów morfometrycznych wyznaczając parametry dopasowania funkcji Gaussa. Analiza porównawcza rozkładów grubości beleczek kostnych i odstępów między nimi nie wykazała istotnych korelacji z masą ciała kurcząt podobnie jak i procentowa objętość kości oraz stosunek powierzchni do objętości struktury beleczkowej kości. Większe zróżnicowanie można było zauważyć między różnymi obszarami branymi do analizy (VOI 1, VOI 2, VOI 3) prawdopodobnie ze względu na ich zróżnicowaną mikrostrukturę. Jedyne parametry *Connectivity Density* określający ilość połączeń w badanej objętości, mógłby być brany pod uwagę jako parametr różnicujący strukturę kości beleczkowej między grupami kurcząt o różnych masach, ale przy założeniu istotności statystycznej $p < 0.1$. Jednakże warto przypomnieć w tym miejscu, że zwykle dla badań biomedycznych ustala się próg istotności statystycznej jako $p < 0.05$. W mojej opinii wyniki analizy morfometrycznej należy traktować

jako wstępne, gdyż została ona przeprowadzona dla stosunkowo małych podgrup (po 5 próbek w każdej podgrupie). Niemniej wyciągnięto z tych badań ważną wskazówkę, że należy się skupić na VOI 2 – obszarze 16-18 mm poniżej płytki wzrostowej kości dla tego typu badań. Może, w dobie wzmożonej konsumpcji drobiu, warto byłoby przeprowadzić analogiczne badania w odniesieniu do kurcząt hodowanych w gospodarstwach rolnych na własny użytek i porównać je z hodowanymi/tuczonymi na „sprzedaż”. Tym bardziej, że w wizualizacji 3D struktury kości i analizie morfometrycznej autor posiada uznane doświadczenie, czego dowodem jest artykuł opublikowany w *Folia Morphologica* 2014, 73(4):422-8, którego doktorant jest pierwszym autorem.

W drugiej części doświadczalnej autor skupił się na optymalizacji procedur badawczych mikrostruktury narządu słuchu. Badania zostały przeprowadzone dla ludzkich kosteczek słuchowych pochodzących z wykopalisk archeologicznych z okresu średniowiecza prowadzonych w rejonie Bydgoszczy. Dobrze metodycznie udokumentowane badania pozwoliły na ujawnienie sieci wewnętrznych kanałów w młoteczkach i kowadełkach. Zwrócono uwagę, że struktura wewnątrz badanej tkanki nie przypomina istoty beczkowatej kości jak również jest istotnie różna od struktury sieci kanałów Haversa i Volkmanna charakterystycznej dla części zbitej kości. Uzyskane wyniki sugerują potrzebę dalszych badań, gdyż badane elementy kostne odgrywają istotną rolę w fizjologii słuchu a mechanizm biomechaniczny przenoszenia dźwięku przez kosteczki wykazujące sieć kanałów nie jest do końca znany. Warto podkreślić, że prezentacja wyników badań elementów słuchu pt. „Inside the human auditory ossicles – micro-CT” została wyróżniona na konferencji SkyScan Micro-CT User Meeting, Ostenda, Belgia w 2014 roku.

Trzecią grupę materiałową stanowiły świńskie gałki oczne, które wybrano jako przykładową tkankę miękką do optymalizacji badania metodą mikrotomografii komputerowej. Przeprowadzenie pomiarów wymagało utrwalenia próbek ocznych i zastosowania odpowiednich środków kontrastowych, co zostało opisane w podrozdziałach 6.1 i 6.2. Przeprowadzono rekonstrukcję obrazu, wizualizację 3D i ich analizę ilościową w oparciu o oprogramowanie SKyScan Bruker MicroCT (Nrecon, CTvox i CTAnalyser odpowiednio) dla różnych metod barwienia. Warto zaznaczyć, że na potrzeby *volume rendering*’u Doktorant zmodyfikował funkcje transferową odpowiedzialną za stopień przezroczystości wokseli w celu poprawienia widoczności elementów na wewnętrznej ścianie gałki ocznej. Najlepsze wyniki obrazowania uzyskano dla barwienia czterotlenkiem osmu

(drogiego i toksycznego) oraz płynem Lugola (znacznie tańszego a dającego zbliżone informacje diagnostyczne). Na uwagę zasługuje Tabela 6.4.2 przedstawiająca porównanie jakości obrazowania szczegółów anatomicznych świńskich gałek ocznych przy zastosowaniu obu barwników oraz Tabela 6.4.1, gdzie podano parametry funkcji Gaussa dopasowanych do odpowiednich rozkładów na histogramach odcieni szarości obliczonych na podstawie rekonstrukcji próbek gałek ocznych barwionych różnymi metodami. Jednakże w mojej opinii wartość pracy wzrosłaby, gdyby Doktorant postarał się jeszcze porównać jakość obrazowania oka nowatorską metodą mikrotomograficzną zastosowaną przez siebie z powszechnie uznanymi metodami takimi jak np. tomografia optyczna (OCT czy SOCT).

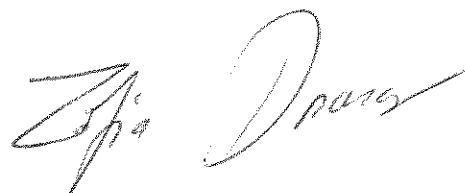
Wyniki badań przeprowadzonych eksperymentów są dobrze udokumentowane w rozprawie ponad 30-stoma rysunkami i zebrane w 9-ciu tabelach, które zostały opatrzone odpowiednią merytoryczną dyskusją. Na podkreślenie zasługuje fakt, że Doktorant opracował lub brał bezpośredni udział w opracowaniu szeregu optymalizacyjnych procedur do skanowania różnego rodzaju obiektów przy pomocy mikrotomografu SkyScan 1172, co znalazło odbicie w rozdziale 7. W Podsumowaniu Autor pracy zestawiał istotne czynniki analizy, które umożliwiają uzyskanie dobrej jakości obrazu mikrotomograficznego tkanek miękkich i zmineralizowanych jak również innych ciał stałych. Wnioski zebrane w Tabeli 7.1 mogą być pomocne w prowadzeniu dalszych badań mikrotomograficznych różnych materiałów.

Praca napisana jest starannie i zilustrowana dobrej jakości rysunkami/zdjęciami. Mam jednak drobne uwagi redakcyjne. Niektóre rysunki opatrzone są niejednoznacznymi podpisami tzn. brak odnośnika do rysunku w tekście i/lub brak pozycji literaturowej w podpisie rysunku: np. Rys. 2.3.1, 2.3.4. dotyczące biomedycznych zastosowań mikrotomografii komputerowej. Natomiast na Rys. 5.1.1 wprowadzono dziewięć cyfrowych oznaczeń a wypunktowano tylko trzy ((1), (2), (3)). Poza tym przy dokładnym czytaniu można było usunąć kilka literówek.

W konkluzji, mimo pewnych uwag krytycznych, mogę stwierdzić, że Kandydat w pełni spełnia ustawowe wymogi stawiane osobom ubiegającym się o tytuł naukowy doktora zgodnie z ustawą z dnia 14.03.2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.) , ustawą z dnia 27 lipca 2005 r. prawo o szkolnictwie wyższy (Dz. U. Nr 164, poz.1365 z późn. zm; tekst

ujednolicony: Dz. U. z 2012 r., poz. 572) oraz z rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 3 października 2014 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskim, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora. Wnoszę o dopuszczenie mgr Bartosza Mateusza Leszczyńskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Ponadto biorąc pod uwagę jakość wyników uzyskanych w ramach pracy doktorskiej i stosunkowo bogaty dorobek naukowy (Doktorant jest pierwszym autorem 2 prac z listy filadelfijskiej: Journal of Nondestructive Evaluation 2016, 35(2), Folia Morphologica 2014, 73(4) i 7 doniesień konferencyjnych) proponuję wyróżnienie Jego pracy doktorskiej.

A handwritten signature in dark ink, appearing to read "Zbigniew Drąg". The signature is fluid and cursive, with the first part being more stylized and the last part more legible.