

Prof. dr hab. Daniel Krzysztof Wójcik

Warszawa, 10.12.2021

Pracownia Neuroinformatyki

Instytut Biologii Doświadczalnej

im. Marcelego Nenckiego PAN

02-093 Warszawa, ul. Pasteura 3

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Piotra Lacherta pt.: „Badanie sprzężenia nerwowo-naczyniowego w trakcie czynności spontanicznej i wykonywania zadania ruchowego”

Tytuł rozprawy: Badanie sprzężenia nerwowo-naczyniowego w trakcie czynności spontanicznej i wykonywania zadania ruchowego

Autor rozprawy: mgr Piotr Lachert

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

W rozprawie autor skupił się na dwóch kwestiach: powiązaniu stężeń utlenowanej i zredukowanej hemoglobiny otrzymanych przy pomocy techniki fNIRS z rytmiczną aktywnością EEG, oraz zbadaniu roli fali Mayera w procesach sprzężenia nerwowo-naczyniowego oraz autoregulacji. Rozprawa ma charakter doświadczalny.

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?

Autor dokonał przeglądu literatury i odnosi się w rozprawie do wyników innych autorów. Oczywiście literatura dotycząca wielu zagadnień poruszanych przez autora (EEG, fNIRS, ich korelacje, fale Mayera, itd) jest bogata i trudno oczekiwać kompletnego przeglądu. Biorąc pod uwagę, że bibliografia zawiera 65 pozycji w tym 10 współautorów doktoranta, na pewno można by ją rozszerzyć, jednak czytając pracę nie miałem poczucia braku kontekstu i uważam, że na potrzeby rozprawy doktorskiej przegląd literatury jest wystarczający.

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

Autor deklaruje, że celem jego pracy było wyjaśnienie zjawisk leżących u podstaw sprzężenia nerwowo-naczyniowego. Moim zdaniem tak postawionego celu nie można badać przy użyciu fNIRS oraz EEG, które mierzą stosunkowo złożone funkcje tych aktywności. Natomiast szczegółowe cele wyglądają inaczej i mogą być (i zostały) zrealizowane. Zarówno badanie powiązania stężeń utlenowanej i zredukowanej hemoglobiny otrzymanych przy pomocy techniki fNIRS z rytmiczną aktywnością EEG jak i zbadanie roli fal Mayera w procesach sprzężenia nerwowo-naczyniowego oraz autoregulacji zostały przeprowadzone poprawnie.

4. Na czym polega oryginalność rozprawy, co stanowi samodzielny i oryginalny dorobek autora, jaka jest pozycja rozprawy w stosunku do stanu wiedzy czy poziomu techniki reprezentowanych przez literaturę światową?

Trudno mi się jednoznacznie odnieść do kwestii samodzielności i oryginalnego wkładu autora, bo rozprawa jest napisana bezosobowo – wykonano, zbadano, itd. – więc nie wiadomo KTO to wykonał itd., zwłaszcza, że wyniki zostały opublikowane w pracach wieloautorskich. Chciałbym, żeby autor w trakcie obrony odniósł się do tego, które z przedstawionych elementów w rozprawie – budowa układu doświadczalnego, doświadczenia, analizy, itd., wykonał sam, które we współpracy, a które wykonał kto inny.

Zakładając, że autor przedstawia wyłącznie własną pracę, możemy uznać, że autor wykonał trzy doświadczenia oraz zbudował wykorzystany układ doświadczalny. Sama budowa układu doświadczalnego stanowiła pewne wyzwanie techniczne ze względu na konieczność umieszczenia optod i elektrod w bliskiej odległości i konieczność synchronicznych pomiarów. Autor wykonał pomiary wielomodalne technikami fNIRS, EEG, a także ciągły pomiar ciśnienia krwi oraz EKG, następnie wykonał szereg ciekawych analiz szukając związku między modalnościami sygnałów hemodynamicznych oraz EEG a także badając własności oscylacji o częstościach fal Mayera w różnych modalnościach w kontekście sprzężenia nerwowo-naczyniowego oraz autoregulacji. Przedstawione wyniki są nowe i oryginalne o czym świadczy ich publikacja w międzynarodowych czasopismach recenzowanych.

5. Czy autor wykazał umiejętność poprawnego przedstawienia uzyskanych wyników i ich interpretacji (zwięzłość, jasność)?

Wyniki zostały przedstawione jasno i przedstawiona argumentacja jest logiczna. Nie ze wszystkimi wnioskami autora się zgadzam, niekiedy w mojej ocenie jego interpretacja idzie za daleko.

Częściowo rozbieżności między nami wynikają na pewno z innego podejścia do badań i analizy, dokładniej omawiam to poniżej.

6. *Jakie są słabe strony rozprawy i ewentualnie jej główne wady?*

We wprowadzeniu do rozprawy uderzyła mnie perspektywa autora, z którą się nie do końca zgadzam. Autor zwraca uwagę, że techniki fMRI i fNIRS mierzą aktywność obszarów mózgu w sposób pośredni (bazując na hemodynamice badanej tkanki) i kontrastuje to z EEG. Dla mnie EEG również mierzy aktywność obszarów mózgu w sposób pośredni, tylko pomiar jest inną funkcją aktywności niż dla fNIRS czy fMRI. Trudno tu precyzyjnie polemizować z autorem bo sama aktywność mózgu nie jest przez niego zdefiniowana. Zakładam, że chodzi o aktywność elektryczną komórek nerwowych w danym obszarze a tego nie potrafimy zmierzyć bezpośrednio masowo. Mam wrażenie, że dla autora EEG jest pomiarem „bardziej bezpośrednim” niż fNIRS i dlatego definiuje ogólny cel swojej rozprawy jako *wyjaśnienie zjawisk leżących u podstaw sprzężenia nerwowo-naczyniowego*. Otóż dla mnie zjawiska leżące u podstawy tego sprzężenia to dostarczanie tlenu komórkom nerwowym itp., interakcje w skali komórkowej między neuronami i gładkim a naczyniami krwionośnymi. To jest zupełnie inny projekt. Nie chcę przez to umniejszać znaczenia badań autora tylko zwrócić uwagę, że moim zdaniem autor **nie bada zjawisk leżących u podstaw sprzężenia nerwowo-naczyniowego**.

Podobnie na s. 14 autor pisze *W niniejszej pracy zagadnienie mechanizmu powstawania MW badano w dwóch etapach*. W tej pracy nie badano mechanizmu powstawania MW, tylko związki między oscylacjami w paśmie MW w różnych sygnałach. Mechanizm powstawania MW również wymaga badań na poziomie komórkowym i systemowym i jest to znowu inny projekt.

Wreszcie w podsumowaniu autor pisze *Drugim celem było zbadanie roli jaką odgrywają fale Mayera w procesach sprzężenia nerwowo-naczyniowego oraz autoregulacji*. Moim zdaniem była to raczej charakterystyka fal Mayera w kilku zmiennych. Na zakończenie autor pisze: *Propagacja fal Mayera w różnych ośrodkach i spójność ich własności obserwowaną w różnych sygnałach wskazuje na ich istotną rolę w generowaniu sprzężeń pomiędzy układem sercowo-naczyniowym, hemodynamicznym i nerwowym. Można postulować że MW są czynnikiem synchronizującym działanie tych układów*. Mój problem z taką interpretacją bierze się stąd, że po pierwsze, autor zbadał wyłącznie oscylacje w paśmie fal Mayera, nie wykazał, że nie ma innych oscylacji tego typu o podobnych własnościach. Być może jest wiele takich pasm i oscylacji o podobnych własnościach, które pojawiają się w badanych sygnałach. Nie podoba mi się takie sformułowanie, że fale generują sprzężenia i synchronizują działanie układów. Dla mnie sygnały biologiczne są epifenomenem dynamiki układu i raczej – być może – sygnalizują sprzężenie, o którym pisze autor, ale niekoniecznie je generują i synchronizują. W każdym razie jak dla mnie w

przedstawionych wynikach brak danych, by deklorować znaczenie fal Mayera w generacji i synchronizacji tych układów. Do pewnego stopnia są to różnice semantyczne: zdają sobie sprawę z tego, że język, jakiego używa autor, jest używany w literaturze, ale dla mnie idzie to za daleko.

Układ rozprawy mnie nie przekonuje, odnoszę wrażenie, że autor chciał wykorzystać w prosty sposób materiał ze swoich publikacji, naturalny, gdyby rozprawa była złożona w postaci zestawu artykułów. W konsekwencji, we wszystkich rozdziałach omawiających wyniki autora mamy zarówno wprowadzenia, prezentację doświadczeń, wprowadzanie kolejnych metod, omówienie wyników i ich dyskusję. Uważam, że rozprawa zyskała by, gdyby wydzielić aspekty metodyczne z poszczególnych rozdziałów i połączyć metody analityczne, zresztą na ogół nieźle opisane, razem z metodami doświadczalnymi w rozdziale metodycznym. W kolejnym rozdziale autor mógłby omówić wyniki trzech doświadczeń w trzech podrozdziałach, a w następnym je po kolei przedyskutować. Konkretnie, rozdział 3.1, 4.1 i 5.1 powinny trafić do wprowadzenia, 3.2, 4.2 (a na pewno pierwszy podrozdział 4.2.2 omawiający metodę DTF) i 4.3 (a na pewno 5.2.2) do metod, 3.3, 4.3 i 5.3 do wyników, 3.4, 4.4 i 5.4 do dyskusji. Taki układ w mojej ocenie uprościłby strukturę pracy i ułatwił autorowi przekazanie, które fragmenty pokazują wiedzę wcześniejszą, a które pokazują jego wyniki.

Pomijając te aspekty strukturalne, muszę podkreślić, że elementy wprowadzające i metodyczne oceniam pozytywnie. Mnie autor przekonał do swoich kompetencji, zarówno doświadczalnych jak i analitycznych. Omówienie podstaw EEG i NIRS, w sensie związków tych pomiarów odpowiednio z aktywnością komórek nerwowych oraz zmianami stężeń hemoglobiny utlenowanej i zredukowanej było jasne i adekwatne do potrzeb rozprawy. Opis schematu doświadczalnego pokazuje wyzwania techniczne i doświadczalne, z jakimi musiał się zmierzyć autor, a także jego rozwiązania. Autor logicznie i przekonująco argumentuje za konkretnym rozmieszczeniem optod względem elektrod, czy wyborem odpowiedniego zadania ruchowego do badań. Także pozostałe części metodyczne, jak opis metody DTF czy dopasowania kroczącego są adekwatne na tym poziomie. Ogólnie opis poszczególnych decyzji podejmowanych przez autora jasno wskazuje dobre zrozumienie podstaw fizycznych badanych zagadnień, zrozumienie konsekwencji różnych skal czasowych zjawisk leżących u podłoża rejestrowanych sygnałów, itd.

Rozdział 3, w którym autor badał korelacje odpowiedzi hemodynamicznej z EEG, jest dla mnie najbardziej przekonujący z rozdziałów z wynikami. Nie do końca jest dla mnie jasne, czy korelacje między zmiennymi z Tabeli 3.3.1 były liczone z przesunięciem czy bez. **Chętnie zobaczyłbym na obronie funkcje korelacji krzyżowej z przesunięciem dla poszczególnych par sygnałów.** Spodziewałbym się, że dla przesunięcia rzędu tych podanych w tabeli wartości korelacji powinny wzrosnąć, przy okazji dostalibyśmy niezależny pomiar różnic wartości opóźnień.

Badania przedstawione w rozdziałach 4 i 5 budzą moje wątpliwości. Przede wszystkim w sytuacji, kiedy rozważamy generator oscylacji w rdzeniu kręgowym czy pniu mózgu a do dyspozycji mamy tylko sygnały korowe, to najlepsza analiza danych nie pozwoli nam wyjść poza poziom spekulacji. W tym sensie, a priori, przed obejrzeniem wyników tych badań, nie oczekiwałbym przełomu. Mam tu również problem semantyczny, mianowicie fale Mayera, jak rozumiem, są zwykle definiowane jako fale ciśnienia tętniczego. W pozostałych sygnałach lepiej jest pewnie mówić o oscylacjach w paśmie fal Mayera. Autor czasami używa takiego sformułowania, czasami używa skrótu myślowego, mówiąc o falach Mayera w aktywności EEG, co wydaje mi się jest nieuprawnione.

Same analizy są dosyć złożone, ale ciekawe. Zabrakło mi wizualnego porównania wyników analizy DTF z rysunku 4.3.1 z wynikami analizy Bootstrap i **chętnie bym ją zobaczył na obronie**. Jak rozumiem, na rysunku 4.3.1 pokazano reprezentację rozrzutu wyników w grupie badanych. Dla każdego z nich pewnie można pokazać, jak to wygląda na tle rozrzutu danych odniesienia, co powinno pokazać, które fragmenty widma niosą informację. Analiza, której wyniki podano w Tabelach 4.3.1-4 robi to w pewnym sensie w sposób sumaryczny. Chciałbym, żeby autor się odniósł do tego.

Nie jest dla mnie zrozumiałe, dlaczego analizy z rozdziału 4 i 5 wykonano na danych z różnych pacjentów. Rozumiem, że były wykonane dwa doświadczenia, ale nie wiem, co stało na przeszkodzie, żeby użyć tego samego protokołu doświadczalnego i w ten sam sposób analizować wszystkie dane (używając DTF i MP). Czy są jakieś zasadnicze różnice między doświadczeniami II i II, których nie widzę?

Nie jest dla mnie jasne, dlaczego wybrano taką a nie inną formę asymetrycznych funkcji do słownika MP, równanie (18). Można np. wykorzystać różnicę funkcji wykładniczych, która jest wykorzystywana m.in. do modelowania asymetrycznej w czasie dynamiki przewodnictwa synaptycznego. Rozumiem, że funkcje z r. (18) były wykorzystane uprzednio w analizie danych, ale czy tutaj autor sprawdził, czy inne profile nie byłyby bardziej adekwatne? Czy to ma znaczenie, czy nie ma znaczenia dla analizy?

7. Co wniosła rozprawa do nauki i/lub techniki?

W pierwszym doświadczeniu autor pokazał znaczące korelacje pomiędzy zmianami utlenowanej i zredukowanej hemoglobiny a oscylacjami EEG w pasmach alpha i beta. Wyznaczył również opóźnienia tych sygnałów między sobą i względem początku bodźca ruchowego. To nie są pierwsze wyniki w tym zakresie ale takich pomiarów w literaturze nie ma wiele; wyniki autora są zgodne z doniesieniami literaturowymi.

W kolejnych dwóch doświadczeniach autor zbadał własności fal Mayera w zmianach ciśnienia aortalnego oraz podobnych oscylacji w pozostałych zmiennych, które mierzył. W szczególności wykorzystał metodę kierunkowej funkcji przejścia (DTF) do wyznaczenia związków przyczynowych pomiędzy sygnałami pochodzącymi z układu krążenia, jak również układu nerwowego. Na podstawie swoich wyników autor postawił hipotezę istnienia silnej i stabilnej pętli sprzężenia w układzie HRV-BP. Zdaniem autora wyniki te wspierają hipotezę baroreceptorową generacji fal Mayera. Żeby lepiej zrozumieć te związki i własności badanych oscylacji, autor wykonał analizę typu dopasowania kroczącego i pokazał, że badane sygnały w odpowiednich pasmach mają spójną strukturę, co wspiera hipotezę interakcji odpowiednich układów i znaczenie funkcjonalne fal Mayera, wspólne dla układów nerwowego, naczyniowego i hemodynamicznego.

8. Szczegółowe uwagi merytoryczne i redakcyjne, ew. piśmiennictwo uzupełniające.

Praca została przygotowana do druku jednostronnego a wydrukowana dwustronnie. Przy druku dwustronnym należy dołożyć dodatkowe strony tak, żeby poszczególne rozdziały zaczynały się po prawej, warto zmienić położenie numerów stron, itp.

W spisie literatury autor używa niespotykanego skrótu e.a. zamiast et al.

Numeracja rysunków wewnątrz podrozdziałów skutkuje takimi oznaczeniami jak rys. 2.0.1. Wystarczyłoby numerować rysunki wewnątrz rozdziałów.

Autor systematycznie używa w rozprawie form bezosobowych: zrobiono, zbadano, itd. Nic nie mam przeciwko takim formom w publikacjach, ale w rozprawie wolę zdecydowanie formy osobowe, żeby było jasno, co zrobił autor sam, a co razem ze współautorami. Jest to szczególnie istotne, kiedy w rozprawie przedstawiono wyniki opublikowane w publikacji wieloautorskiej. Na przykład, kiedy autor pisze *Do realizacji celu badawczego zbudowano układ doświadczalny* to on to zbudował czy dla niego zbudowano? Podobnie, kiedy autor pisze *W celu adaptacji czepka do pomiarów fNIRS zaprojektowano oraz wydrukowano przy użyciu techniki druku trójwymiarowego plastikowe mocowania optod światłowodowych do czepka* to on to zrobił, czy ktoś inny? itd.

Autor używa kilkakrotnie domyślnej mapy kolorystycznej Matlaba (rys. 3.3.1, 3.3.2, 5.3.1), która jest przykładem mapy tęczowej, o których wiadomo, że wprowadzają zniekształcenia percepcyjne. Lepiej jest używać map natężenia jednego koloru dla wielkości zadanych amplitudą, a dwóch kiedy jeszcze mamy polaryzację (jak np. potencjał, zmiany stężenia, itp.).

W rozdziale 3.3 odnośniki do rysunków są niepoprawne.

Na s. 46 autor dwukrotnie używa zwrotu dość wyraźna lateralizacja. Nie jest dla mnie jasno co to znaczy, i kiedy lateralizacja jest a kiedy nie jest dość wyraźna.



Bibliografia jest niedopracowana i zyskałaby na dodatkowej redakcji. Prace są opisywane niejednolicie. Czasem autor podaje 8 autorów, czasem tylko pierwszego z trzech. Używa skrótu e.a. zamiast et al. albo i wsp. Wielkość liter bywa losowa, np. w pracy 29 nirs-eeg. W pracy 8 zginął drugi autor, itd.

Rysunek 4.3.1 zyskałby na obrocie i powiększeniu na całą stronę.

Na s. 57 jest problem z indeksami.

9. Jak Recenzent ocenia rozprawę (podać uzasadnienie):

c) spełniająca wymagania

Pomimo moich powyższych uwag krytycznych i polemicznych muszę podkreślić, że przeczytałem tę rozprawę z zainteresowaniem i z przyjemnością. Uważam, że autor jasno przedstawił zagadnienia, które go interesują, a także wykazał się kompetencjami zarówno technicznymi, doświadczalnymi jak i analitycznymi w zakresie adekwatnym do wyzwań stawianych doktoratom. W związku z tym moja ogólna ocena pracy mgr. Piotra Lacherta jest zdecydowanie pozytywna. Wybrany temat jest trudny i ważny, w tym kontekście autor poradził sobie z nim dobrze. **Uważam, że rozprawa doktorska Pana mgr. Piotra Lacherta spełnia zwyczajowe i formalne warunki stawiane rozprawom doktorskim i dlatego w oparciu o przepisy Ustawy o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym wnoszę do Wysokiej Rady Instytutu Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej Polskiej Akademii Nauk im. Macieja Nałęczka o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Prof. dr hab. Daniel K. Wójcik