

Kraków, 19.10.2023 r.



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

Dr hab. Grzegorz Tatoń
Zakład Biofizyki, Katedra Fizjologii
Wydział Lekarski Collegium Medicum UJ
ul. Św. Łazarza 16
31-530 Kraków
Tel. +48 12 6199 682
e-mail: g.taton@uj.edu.pl

Recenzja pracy doktorskiej

Katedra Fizjologii

Zakład Biofizyki

mgr inż. Kai Piany

zatytułowanej:

***Diagnostyka pierwiastkowych
i molekularnych zmian narządowych
u otyłych szczurów, poddanych
przezczaszkowej elektrostymulacji
prądem stałym (tDCS), z wykorzystaniem
technik spektroskopowych opartych na
promieniowaniu X i podczerwieni***

ul. Św. Łazarza 16

PL 31-530 Kraków

tel: +48 12 619 96 81

fax: +48 12 619 96 85

biofizyka@cm-uj.krakow.pl

www.biofizyka.cm-uj.krakow.pl

Informacja o promotorze i miejscu powstania pracy doktorskiej

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska mgr inż. Kai Piany pt. *Diagnostyka pierwiastkowych i molekularnych zmian narządowych u otyłych szczurów, poddanych przezczaszkowej elektrostymulacji prądem stałym (tDCS), z wykorzystaniem technik spektroskopowych opartych na promieniowaniu X i podczerwieni* została napisana pod kierunkiem dr hab. Magdaleny Szczerbowskiej-Boruchowskiej, prof. AGH i powstała na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej Akademii Górniczo-Hutniczej im. Stanisława Staszica w Krakowie.

Celowość podjętych badań

Otyłość staje się coraz poważniejszym wyzwaniem dla współczesnych społeczeństw, zwłaszcza w krajach rozwiniętych. Ponieważ związana jest z całym szeregiem problemów zdrowotnych i społecznych, to badania związane z jej zapobieganiem, diagnozowaniem i leczeniem są bardzo istotne. Stosowane dotychczas metody klasyfikacji pacjentów jako otyłych nie są w pełni wiarygodne, zwłaszcza w początkowych stadiach tej choroby. Metody oparte na prostych pomiarach masy i geometrii np. określanie wskaźnika BMI zawodzą w przypadku osób, które nie wykazują widocznych cech otyłości, a są nią jedynie zagrożone. Podobnie zresztą, jak metody bioimpedancyjne, czy metody opisujące skład ciała poprzez badanie osłabienia promieniowania X nie mogą działać w sytuacji, gdy udział tkanki tłuszczowej w całkowitej masie ciała jest jeszcze niewielki.

Postuluje się, że za powstawanie otyłości odpowiedzialne są mechanizmy psychologiczne, które mogą być konsekwencją zaburzeń składu biochemicznego tkanki mózgowej na poziomie molekularnym i pierwiastkowym. Zmiany takie w początkowych stadiach choroby mogą być konsekwencją złych nawyków żywieniowych, ale też mogą do nich doprowadzać i je wzmacniać. Gdyby tak było w istocie, to ich badanie, zwłaszcza w odniesieniu do tkanki mózgowej, może się przyczynić do zrozumienia mechanizmów powstawania i rozwoju otyłości również w jej wczesnych etapach.

Zakładając, że to zmiany na poziomie składu chemicznego tkanek świadczą o zagrożeniu otyłością i do niej prowadzą, można sobie wyobrazić działania terapeutyczne pozwalające zwalczać otyłość, albo nawet jej zapobiegać. Jedną z takich metod może być przezczaszkowa stymulacja tkanki mózgowej prądem stałym. Można spotkać w literaturze naukowej doniesienia o pozytywnych efektach stosowania tego rodzaju stymulacji w kontekście walki z otyłością, ale zastosowania takie pozostają nadal na etapie prac eksperymentalnych.

Zarówno skuteczna diagnostyka, jak i zapobieganie i leczenie otyłości wymaga znajomości zmian zachodzących w tkankach na poziomie składu chemicznego, zwłaszcza we wczesnych etapach tego schorzenia. Wiedza na ten temat jest nadal niepełna i dlatego podjęte badania są niezwykle ważne. W tym kontekście wybór tematu pracy doktorskiej, jakiego dokonała Kandydatka jest jak najbardziej uzasadniony i godny uznania.

Ocena układu rozprawy doktorskiej

Recenzowane opracowanie jest bardzo obszerne. Liczy w całości 219 stron. Część objętości pracy stanowią oczywiście elementy spotykane i niezbędne w każdej pracy takiej, jak strony tytułowe, spis treści, spis rysunków i tabel oraz spis literatury. Autorka umieściła w swojej dysertacji 100 rysunków i 22 tabele. Jeśli weźmie się pod uwagę jedynie część merytoryczną pracy (zaczyna się ona na str. 8 „Wstępem” i kończy na str. 189) oraz fakt, że zastosowano pojedyncze odstępy między wierszami (co daje to około 50 wierszy na stronę), to ilość przekazanych czytelnikowi informacji robi naprawdę duże wrażenie. Część merytoryczna składa się z pięciu rozdziałów. W pierwszym scharakteryzowano problem badawczy, w drugim opisano materiał i metody. W rozdziale tym zawarto

jedynie informacje o modelu zwierzęcym wykorzystanym w eksperymentach, preparatyce próbek i stosowanych w pracy metodach analizy uzyskiwanych danych. Trzeci rozdział poświęcony jest wynikom uzyskanym przy pomocy technik rentgenowskich, czyli SRXRF (Synchrotron Radiation Based X-Ray Fluorescence – fluorescencja rentgenowska indukowana promieniowaniem synchrotronowym) i TXRF (Total-Reflection X-Ray Fluorescence – fluorescencja rentgenowska z całkowitym wewnętrznym odbiciem). Pierwsza część rozdziału poświęcona jest zagadnieniom teoretycznym i technicznym związanym z zastosowanymi technikami, a druga opisuje wyniki uzyskane z ich pomocą. Podobnie skonstruowany jest rozdział czwarty dotyczący metody FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy – spektroskopia w podczerwieni oparta o szybką transformatę Fouriera). Ostatni, piąty rozdział został zatytułowany „Podsumowanie” i zawiera dwa podrozdziały zawierające dyskusję i wnioski końcowe.

Układ i struktura pracy są nieco nietypowe. Większość prac naukowych, w tym dysertacji tworzy się według schematu IMRAD (Introduction, Materials and methods, Results (And) Discussion). W moim odczuciu układ ten jest najbardziej naturalny, przejrzysty i czytelny. Konstrukcja trzeciego i czwartego rozdziału zaburza schemat IMRAD, ponieważ rozdziały te zawierają zarówno część teoretyczną z opisem technicznym, jak i wyniki badań. Pierwszy z tych elementów powinien raczej przynależeć częściowo do wstępu, a częściowo do rozdziału poświęconego materiałom i metodyce. Część zawierająca opis wyników powinna się znaleźć w oddzielnym rozdziale poświęconym w całości prezentacji wyników. Podobne uwagi są aktualne również w stosunku do rozdziału czwartego.

Umieszczenie dyskusji jako części podsumowania, czyli ostatniego z pięciu głównych rozdziałów pracy również jest nietypowe. Bardziej naturalnym rozwiązaniem byłoby wyodrębnienie dyskusji wyników w postaci oddzielnego rozdziału. Na końcu opracowania powinno pojawić się podsumowanie zawierające najważniejsze wnioski z pracy, w tym również z dyskusji wyników.

Oczywiście stosowanie schematu IMRAD nie jest obligatoryjne i struktura pracy może być inna. Być może zastosowany przez Kandydatkę schemat jest właściwszy niż IMRAD wobec dużej ilości uzyskanych wyników z trzech różnych metod pomiarowych. W takiej sytuacji można zadać pytanie: dlaczego SRXRF i TXRF nie zostały opisane w oddzielnych rozdziałach?

W moim odczuciu należy poświęcić również kilka słów komentarza tytułowi pracy, chociaż nie jest to element związany bezpośrednio z układem pracy doktorskiej. Niestety muszę stwierdzić, że tytuł pracy nie w pełni oddaje jej treść i cele.

Praca ma dwa główne cele (str. 18), a mianowicie: badanie zmian w tkankach zwierząt laboratoryjnych spowodowanych stosowaniem diety wysokokalorycznej w stosunku do grupy kontrolnej oraz zmian powodowanych przezczaszkową elektrostymulacją prądem stałym (tDCS). Pierwszy z tych celów, określony przez Autorkę jako główny, nie znajduje w ogóle odzwierciedlenia w tytule. Po drugie, autorka nie przeprowadza diagnostyki, a jedynie porównuje ściśle określone grupy zwierząt pod względem składu biochemicznego wybranych tkanek. Słowo „diagnostyka” moim zdaniem powinno być zastąpione terminem „badania”. Słownik Języka Polskiego PWN mówi, że „diagnostyka” to: (1) rozpoznawanie chorób na podstawie ich objawów, badania lekarskiego i wyników analizy laboratoryjnej, (2) określanie stanu technicznego urządzeń i ustalanie źródeł awarii. Treść i cele pracy nie podlegają żadnej z w/w definicji.

Wyniki opisywanych badań z pewnością są krokiem na drodze do opracowania nowych, bardziej wiarygodnych i obiektywnych metod diagnostyki otyłości, ale w recenzowanej pracy nie może być mowy o diagnostyce. Należy również dodać, że zastosowane przez Kandydatkę metody pomiarowe przyczynić się mogą do poszerzenia wiedzy na temat zmian w tkankach związanych ze stosowaniem diety wysokokalorycznej, albo generowanych przez tDCS, ale dwie z nich (SRXRF i TXRF) z pewnością nie mogą być zastosowane w powszechnej diagnostyce otyłości ze względu na koszty i ograniczoną

dostępność. Uwaga ta nie dotyczy jedynie FTIR. W przypadku tej metody potrafię sobie wyobrazić, że można ją zastosować w laboratorium diagnostycznym.

Ocena zastosowanego piśmiennictwa

Bibliografia zamieszczona w pracy jest bardzo bogata i zasługuje na uznanie. Lista cytowanych prac zawiera 225 pozycji. Kandydatka sprawnie i umiejętnie cytuje materiały, z których korzysta. W zasadzie każde stwierdzenie, które tego wymaga jest poparte cytowaniem. Materiały źródłowe wykorzystane przez Kandydatkę są uznanymi podręcznikami akademickimi a częściej pracami oryginalnymi drukowanymi w recenzowanych czasopismach. Zwłaszcza w odniesieniu do tej części pracy, w której dyskutowane są wyniki badań. Prace źródłowe stanowią tutaj kontekst, w którym wykonana została praca badawcza Kandydatki i który posłużył jako odniesienie w dyskusji.

Gdybym pokusić się o uwagi krytyczne związane z zastosowanym piśmiennictwem, to zwróciłbym uwagę na pewną nadmiarowość pod względem liczby cytowanych pozycji. Cytowanie tekstów źródłowych jest naprawdę zbędne w przypadku szeroko znanych, uznanych w świecie nauki i stosowanych na co dzień metod, jak np. niektóre z zastosowanych metod statystycznych. Mam tu na myśli pozycje [98-100], czyli prace Manna, Whitneya i Kruskala z połowy ubiegłego wieku, które prezentują powszechnie i rutynowo stosowane obecnie testy statystyczne.

Wskazanie oraz ocena celu pracy Kandydatki do stopnia doktora

Autorka deklaruje swoje cele w podrozdziale 2.5 w nieco skomplikowany i chaotyczny sposób, ale analizując ten rozdział daje się je sprowadzić do dwóch wymienionych wcześniej: (1) poznanie biochemicznej odpowiedzi na otyłość indukowaną dietą wysokokaloryczną w obszarach mózgu zaangażowanych w regulację apetytu, jak również w organach i tkankach zazwyczaj dotkniętych w otyłości; oraz (2) zbadanie odpowiedzi biochemicznej na stymulację mózgu metodą tDCS hamującą i pobudzającą aktywność neuronalną kory mózgowej w obszarach mózgu odpowiedzialnych za regulację apetytu oraz w innych tkankach i narządach, które zazwyczaj obciążone są w otyłości. Autorka bada efekty stosowania tDCS przy odmiennych polaryzacjach i odmiennych protokołach.

Jeżeli weźmie się pod uwagę, że w badaniach stosowane są trzy metody pomiarowe dające informacje o wielu pierwiastkach i związkach, to rodzą się w czytelniku już na początku opracowania odczucia ambiwalentne. Z jednej strony od razu wiadomo jak nieprawdopodobnie duża ilość informacji zostanie zgromadzona w toku opisywanych badań, a to rodzi szacunek dla pracowitości i zaangażowania Kandydatki. Z drugiej jednak strony, pojawia się obawa przed chaosem informacyjnym nad którym trzeba będzie zapanować. Niestety nad tym ogromem informacji Autorka nie w pełni zapanowała i osobiście muszę przyznać, że podczas czytania pracy poczucie chaosu towarzyszyło mi cały czas. Biorąc to pod uwagę ośmielę się postawić tezę, że z korzyścią dla opracowania mogłoby być ograniczenie celów, jakie Kandydatka przed sobą postawiła.

Przy okazji omówienia celów badań należałoby uściślić, czego tak naprawdę one dotyczą. Już w tytule spotykamy się z określeniem „szczury otyłe” i określenie to stosowane jest konsekwentnie i wielokrotnie. Jak deklaruje Autorka w rozdziale poświęconym celom pracy, ma ona bowiem badać zmiany biochemiczne tkanek we wczesnym stadium otyłości. Tymczasem badane grupy zwierząt różnią się nie tym, że jedne są otyłe, a inne nie, gdyż tego w żaden sposób nie stwierdzono. Nie zaproponowano i nie zastosowano żadnej metody kwalifikacji badanych zwierząt jako otyłe, lub nieotyłe. Badane zwierzęta różniły się w istocie tym, że jedne podlegały diecie wysokokalorycznej, a drugie normalnej. Żadna z nich nie gwarantuje w stu procentach indukcji otyłości, bo to są kwestie osobnicze. Z tego powodu uważam, że Autorka powinna zdefiniować problem badawczy precyzyjniej

i jawnie podkreślać, że bada różnice generowane w organizmach zwierząt poprzez dwa rodzaje diety, z których wysokokaloryczna prowadzi do otyłości z większym prawdopodobieństwem.

Wskazanie oraz ocena zastosowanych metod badawczych

Badania zostały przeprowadzone z zastosowaniem modelu zwierzęcego. Zaangażowano w nim szczury płci męskiej rasy Wistar. W każdym etapie eksperymentu grupa zwierząt była dzielona na dwie, z których jedna podlegała diecie wysokokalorycznej, a druga była żywiona normalnie. W zależności od etapu eksperymentu szczury pozostające na diecie wysokokalorycznej były dzielone na podgrupy w celu badania różnych istotnych aspektów. Wydzielając grupy określane jako „Sham” badano przykładowo, czy instalacja elektrod stosowanych w tDCS ma wpływ na obserwowane zmiany. Liczebność populacji w ramach poszczególnych grup była na poziomie kilku osobników i była różna w zależności od etapu eksperymentu.

W ocenie uzyskanych wyników stosowano nowoczesne i zaawansowane metody analizy danych. Stosowano analizę określaną jako ART (Aligned Rank Transform), która jest nieparametrycznym odpowiednikiem wieloczynnikowej analizy wariancji (metoda ANOVA). Metoda polega na rangowaniu zmiennych w sytuacji, kiedy nie spełniają one warunków, w których może być stosowana metoda ANOVA. Analizy takie wykonywano przy użyciu dedykowanego narzędzia ARTool. Drugą metodą zastosowaną w pracy była metoda analizy składowych głównych PCA (Principal Component Analysis), a trzecią analiza krzywych ROC (Receiver Operating Characteristic).

Dobór w/w metod wydaje się właściwy i świadczy bardzo dobrze o umiejętnościach i wiedzy Autorki w zakresie analizy złożonych i obszernych zbiorów danych pomiarowych, ale w tej beczce miodu można niestety dopatrzeć się śladów dziegciu w postaci dwóch ewidentnych potknięć.

Równanie 4.1 na str. 31 jest błędne. Równanie to jest definicją czułości, a to pojęcie leży u podstaw analiz wykorzystujących krzywe ROC. Gdyby Autorka stosowała taką definicję czułości, jaką opisuje równaniem 4.1, to większość analiz należałoby powtórzyć i część wniosków z pracy byłaby wątpliwa. Należy więc mieć nadzieję, że tylko równanie zostało zapisane niewłaściwie, natomiast obliczenia zostały przeprowadzone w oparciu o oprogramowanie z właściwie zaimplementowanym pojęciem czułości. Równanie powinno mieć postać: $Czułość = TP/(TP+FN)$.

Na str. 87 znajduje się równanie 7.5 zastosowane w celu obliczenia niepewności limitu detekcji. Wzór ten opisuje średni błąd średniej dla pomiaru wielokrotnego, a zastosowanie tej metody wyznaczenia niepewności w przypadku trzech pomiarów jest „szkolnym” błędem, który nie powinien mieć miejsca w dysertacji. W przypadku liczby pomiarów mniejszej niż 5 stosuje się w celu oszacowania niepewności maksymalne odchylenie od średniej.

O ile dobór metod analizy danych i liczba przeprowadzonych analiz budzą szacunek, to dwa wyżej wymienione błędy rodzą pytanie, czy wszystkie zaawansowane analizy zostały wykonane poprawnie w sytuacji, gdy Autorce zdarzyło się popełnić tak podstawowe błędy.

Zmiany biochemiczne w badanym materiale określano z zastosowaniem trzech nowoczesnych i zaawansowanych metod pomiarowych, które są metodami fizycznymi. Są to wymieniane już wcześniej SRXRF, TXRF i FTIR. Zastosowane metody pomiarowe są zdecydowanie na najwyższym światowym poziomie, a ich użycie niewątpliwie działa na korzyść pracy. Należy zdecydowanie docenić fakt, że tego rodzaju metody stosowane są w dysertacjach młodych polskich naukowców.

Wyjaśnienia wymaga kilka kwestii metodycznych, które pozwolę sobie wymienić w punktach.

- 1) W eksperymencie testującym wpływ różnego rodzaju stymulacji grupa określana jako Sh' była poddawana stymulacji prądem o niskim natężeniu (~40 μ A). Grupa określana jako „Sham” jest stosowana w celu sprawdzenia, czy instalacja elektrod sama w sobie nie jest czynnikiem powodującym zmiany składu biochemicznego. Prąd, nawet o niskim natężeniu, jest tutaj dodatkowym czynnikiem potencjalnie wpływającym na badane punkty końcowe. Autorka nie wyjaśnia jaki był powód stosowania niezerowego natężenie prądu w przypadku grupy Sh' w tej części projektu. W jednym z wcześniej opisanych eksperymentów zastosowano grupę „Sham” określaną skrótem Sh, dla której nie stosowano stymulacji prądem ($I = 0 \mu$ A). Ponieważ pomiędzy Sh i Sh' występuje różnica w postaci stosowania, albo niestosowania stymulacji prądem o niskim natężeniu, to wszystkie wnioski dotyczące porównania grup Sh i Sh' są wątpliwe.
- 2) Wyjaśnienia wymaga kwestia metodyki badania SXRF opisanej na stronach 42 i 43. Dla różnych sesji pomiarowych stosowano dwa rodzaje monochromatora. Był to monochromator Si(111) albo wielowarstwowy monochromator RuB₄C. Strumienie fotonów uzyskiwane przy pomocy obydwu monochromatorów kształtowały się na poziomie odpowiednio 10^9 i 10^{10} fotonów na sekundę. Z kolei czasy pomiarów w przypadku zastosowania obydwu rozwiązań wynosiły odpowiednio 120s i 60s. Dziesięciokrotna dysproporcja pomiędzy strumieniem charakteryzującym uzyskiwaną monochromatyczną wiązkę promieniowania X nie była właściwie rekompensowana wydłużonym czasem pomiaru. Z pewnością miało to wpływ na statystykę rejestrowanego sygnału, a tym samym uzyskane wyniki. Problem ten wart jest komentarza ze strony Autorki.
- 3) Na str. 25. w opisie materiału Autorka umieszcza informację, że jedną z badanych tkanek była tkanka mięśniowa. Nie znalazłem informacji o tym, który mięsień brano pod uwagę i czy w każdym przypadku był to ten sam mięsień. To ważna informacja i powinna być jasno wyartykułowana. W sytuacji, gdyby analizie poddawano różne mięśnie, wnioski nie mogłyby być miarodajne.

Ocena części rozprawy dotyczącej omówienia wyników

Sygnalizowałem już wcześniej obawy związane z ogromną ilością uzyskanych w opisywanych eksperymentach danych. O tym ogromie świadczy chociażby liczba umieszczonych w pracy rysunków (100), które w znaczącej części przedstawiają wykresy związane z analizą danych pomiarowych. Zwróćmy uwagę, że w ogromnej większości wykresy te składają się z wielu elementów.

Ilość informacji budzi respekt i niewątpliwie świadczy o ogromnej pracy, jaką Kandydatka wykonała w trakcie prowadzenia badań i przygotowania dysertacji. Trzeba to docenić. Niedosyt pod tym względem wynika z faktu, że Autorka nie zdołała w pełni zapanować nad pewnego rodzaju chaosem. Ma się wrażenie, że pragnie ona opowiedzieć o wszystkich eksperymentach i wynikach, które uzyskała bez względu na to, czy są one rzeczywiście istotne czy nie.

W moim odczuciu przemyślana i właściwa selekcja wyników prezentowanych w dysertacji mogła zadziałać na korzyść i sprawić, że opracowanie stałoby się bardziej przejrzyste i łatwiej przyswajalne dla czytelnika. Wydaje mi się, że Autorka powinna się skoncentrować na tych wynikach, które prowadziłyby do sensownych wniosków przewidzianych na podstawie konkretnych przesłanek, np. zaczerpniętych z literatury, albo przynajmniej zdroworozsądkowych.

W odniesieniu do prezentacji wyników nasuwają się dwie uwagi.

- 1) Część wniosków opisywanych w dyskusji wyników (podsumowaniu) (rozdział V) była opisana już wcześniej w rozdziałach zawierających wyniki (rozdział III i IV). Dublowanie tych samych informacji niepotrzebnie zwiększa objętość pracy.
- 2) Autorka w kilku miejscach stwierdza, że „nie wykazano istotności statystycznej, ale wyniki są bliskie istotności”. Ma to miejsce wtedy, gdy stosowane testy statystyczne dają w wyniku p nieznacznie większe niż 0,05. Na przykład na str. 140 podobny wniosek jest wysuwany w sytuacji, gdy $p = 0,08$.

Podjęcie takie jest niewłaściwe. Wynik, albo jest, albo nie jest istotny statystycznie. Zwróćmy uwagę, że można zastosować podobną narrację w sytuacji, gdy p jest nieznacznie mniejsze niż założone 0,05. W sytuacji, gdyby p było równe np. 0,04 można by powiedzieć, że co prawda pokazano statystyczną istotność, ale jest ona mało wiarygodna. Zabieg zastosowany przez Autorkę stwarza wrażenie, że niektóre wnioski Autorka stara się uzasadniać właściwie trochę „na siłę”.

Informacje dotyczące praktycznego zastosowania uzyskanych wyników badań

Omawiane badania należy zakwalifikować w mojej ocenie do badań podstawowych. Celem Kandydatki było badanie zmian biochemicznych w tkankach spowodowanych otyłością i stosowaniem jednej z metod terapeutycznych, które być może w przyszłości będą pomocne w leczeniu i zapobieganiu otyłości. Ponieważ wiedza w tym zakresie jest niepełna, to informacje uzyskane w trakcie powstawania recenzowanej pracy są niezwykle ważne. Z pewnością mogą być podstawą do lepszego zrozumienia zmian zachodzących w tkankach w trakcie inicjacji w organizmie procesów prowadzących do powstania otyłości oraz mogą stanowić przesłankę do opracowania metod zapobiegania i leczenia tego zjawiska.

W moim odczuciu dysertacja w obecnej formie nie nadaje się do publikacji w postaci monografii, ale stanowi znakomity punkt wyjścia do jej opracowania. Innym rozwiązaniem może być publikacja kilku prac oryginalnych, które zdecydowanie mają szansę na ukazanie się w dobrych recenzowanych czasopismach naukowych. Wydaje mi się, że to drugie rozwiązanie jest lepsze. Kandydatka w najbliższym czasie powinna zdecydowanie podążyć tą drogą.

Krytyczna ocena jakości recenzowanej pracy

Ponieważ rolą recenzenta jest krytyczna ocena pracy pozwolę sobie poniżej w punktach opisać szereg szczegółowych uwag, jakie nasunęły mi się podczas analizy dysertacji pani mgr. inż. Kai Piany. Mam nadzieję, że przysłużą się one pozytywnie w opracowaniu wielu ciekawych i wartościowych prac oryginalnych, które mają szansę powstać z wykorzystaniem zgromadzonego materiału.

1. Styl wypowiedzi jest niekonsekwentny i niezupełnie adekwatny do opracowania jakim jest dysertacja. W moim odczuciu jest to jedna z największych wad opracowania. Z jednej strony Autorka często stosuje określenia niewłaściwe, niekiedy wręcz „slangowe” a z drugiej stara się stosować skomplikowane i wielokrotnie złożone zdania, mające w zamyśle pokazywać chyba kunszt językowy. Zdecydowanie zbyt często stara się na przykład stosować zdania wtrącone. Niestety brak umiejętności we właściwym stosowaniu przecinka powoduje, że momentami tekst staje się zupełnie niezrozumiały i bardzo trudny w odbiorze. Niemal na każdej stronie można znaleźć kilka błędów interpunkcyjnych związanych z niewłaściwym stosowaniem przecinka.

Podam kilka przykładów określeń, które moim zdaniem nie powinny się znaleźć w pracy doktorskiej. Autorka używa określenia „badania na modelu zwierzęcym”, zamiast „badania z wykorzystaniem modelu zwierzęcego”. „Zdjęcia”, zamiast „fotografia”. „Wszystkie próbki mierzone były”, zamiast „wszystkie próbki badane były”. „Przykładowe widma promieniowania charakterystycznego zmierzone w tkance mózgu”, zamiast „przykładowe widma promieniowania charakterystycznego uzyskane w badaniach tkanki mózgu”.

2. Autorka zdecydowanie nadużywa słowa „ponadto” i niekiedy odnosi się wrażenie, że nie rozumie jego znaczenia.
3. We wstępie na str. 8 w połowie strony znajduje się zdanie liczące 75 słów i zawierające 5 przecinków. Zdanie to zajmuje 8 wierszy i wymaga od czytelnika wielkiego skupienia, aby był

w stanie zrozumieć jego treść. Zdanie zaczyna się słowami „I tak w przypadku...”. Jest to jeden z przykładów niewłaściwego stylu wypowiedzi, a przykładów takich można przytoczyć znacznie więcej. Kandydatka powinna zrozumieć, że nie ma niczego złego w formułowaniu zdań prostych i przez to zrozumiałych.

4. Opis działania serca zawarty na stronie 13 jest niezwiązany z tematem pracy i można go było pominąć bez szkody dla jakości opracowania.
5. Kandydatka często używa określenia „grupa badawcza” w odniesieniu do badanej grupy zwierząt. „Grupa badawcza”, to grupa badaczy przeprowadzająca badania naukowe, a zwierzęta badane stanowią „grupę badaną”.
6. W opisie grup badanych na początku rozdziału 3.1.2 jest nieścisłość w stosunku do opisów zamieszczonych na schematach 3.1 (str. 22) i 3.2 (str. 23). W pierwszym akapicie podrozdziału Autorka twierdzi, że w obydwu eksperymentach, tj. ukierunkowanym na badanie zmian w mózгах i ukierunkowanym na badania zmian w innych narządach i tkankach zwierzęta otyłe dzielono na cztery grupy. W szczególności schemat 3.2 pokazuje coś innego.
7. Na str. 24 Autorka stwierdza, że zwierzęta były stymulowane prądem o natężeniu $0 \mu\text{A}$. Trudno zgodzić się, że zwierzęta były stymulowane prądem w sytuacji, gdy prąd nie płynie.
8. Na str. 25. w opisie protokołu stymulacji (podrozdział 3.1.3) jest informacja, że zwierzęta były poddawane 8miu stymulacjom w ciągu 14stu dni. Skoro w 41szym dniu eksperymentu rozpoczęto serię stymulacji co dwa dni, to były one wykonywane kolejno w 41, 43, 45, 47, 49, 51 i 53 dniu, czyli 7 razy. Według opisu bowiem eksperyment kończył się w 54tym dniu.
9. Str. 28, pierwszy akapit rozdziału 4.3. W języku polskim w odniesieniu do statystycznych rozkładów zmiennych używa się raczej określenia „rozkład”, a nie „dystrybucja”. Zastosowanie takiego określenia może świadczyć o tym, że fragment tekstu został przetłumaczony z wersji oryginalnej tekstu źródłowego [95] przy pomocy automatycznego narzędzia. Tezę taką wzmacniają błędy interpunkcyjne tego fragmentu, które wydają się być odzwierciedleniem składni angielskiej. Sytuacja taka nie powinna mieć miejsca.
10. Interpretacja wyników pokazanych na rys. 6.6 (str. 47) umieszczona w pierwszym akapicie pod tym rysunkiem pozostaje niejasna. Trudno się zgodzić ze stwierdzeniem, że dla cynku ($Z=30$) lepszą wykrywalność wykazano dla monochromatora Si(111). Na wykresie punkt reprezentujący wynik uzyskany dla monochromatora wielowarstwowego jest poniżej punktu reprezentującego wynik dla monochromatora Si(111). Opisuje więc mniejszą wartość LOD, czyli niższy próg detekcji. Sytuacja wskazana przez autorkę ma miejsce dla miedzi ($Z=29$) i dla żelaza ($Z=26$).
Cały w/w akapit napisany został w sposób niezrozumiały, chaotyczny i niezbyt poprawny językowo. Przykładowo myśl „co na ograniczonym czasie pomiarowym jest czasem niemożliwe” nie została zbyt fortunnie wyartykułowana. Podobne uwagi można odnieść do opisów na str. 52.
11. W kilku miejscach zdarza się, że Autorka nie przestrzega właściwej kolejności numerowania grafik. Ma to miejsce na przykład na str. 52. Rysunki w manuskrypcie powinny się pojawiać w takiej kolejności, w jakiej Autorka odnosi się do nich w treści.
12. Wszystkie skróty i oznaczenia pojawiające się na rysunkach powinny być wyjaśnione. Autorka nie wyjaśnia stosowanych oznaczeń w przypadkach krzywych ROC, np. str. 62 i dalsze.
13. Omówienie wyników na stronach 48-84 jest bardzo chaotyczne i miejscami niezrozumiałe. Autorka stosuje fatalny styl wypowiedzi, a tekst zawiera sporo błędów edycyjnych. Wady te znacząco utrudniają zrozumienie przekazywanych treści.
14. W opisie wyników na str. 72 prawdopodobnie znalazło się niewłaściwe odwołanie do rysunku. Autorka odwołuje się do rys. 6.15, a ma na myśli rys. 6.28. Podobnie w opisie wyników analizy PCA na str. 74.

15. Na rysunku 6.36 brakuje symbolu * oznaczającego istotność statystyczną dla różnic w koncentracji Fe w obszarze AMY. Opis nad rysunkiem sugeruje, że takie różnice zaobserwowano.
16. Limity wykrywalności w metodzie TXRF określa się dla stężenia, zatem w tabeli 7.1 podsumowującej wyniki obliczeń limitów wykrywalności tej metody są niewłaściwe jednostki.
17. Pewne wątpliwości budzą wyniki prezentowane w ostatnim akapicie na str. 87. Fakt, że w 8miu przypadkach na 10 p wynosi 0,0022 jest podejrzany.
18. Na str. 140 w opisie wyników analizy ART znalazło się niewłaściwe odwołanie do tabeli. Autorka miała z pewnością na myśli tabelę 9.8, a nie 9.3.
19. W opisie rys. 9.19 jest błąd. Powinno być „pośrednio”, zamiast „bezpośrednio”.
20. W pierwszym akapicie na str. 150 znalazło się błędne odwołanie do rysunku. Jest odwołanie do rys. 9.21, a powinno być do 9.25.
21. Słowo „hipokamp” w języku polskim w dopełniaczu przyjmuje formę „hipokampu”, a nie „hopokampa” jak chce Autorka na str. 167 i 170.

Ocena, czy rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego

Nie mam wątpliwości, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, jaki Kandydatka postawiła przed sobą. Co prawda z mojego opisu wynika, że pracę cechuje pewna nadmiarowość, ale zdefiniowane przez Autorkę liczne cele zostały osiągnięte i przyniosły również bardzo liczne i konkretne wyniki. Z punktu widzenia postępu wiedzy w dziedzinie, której dotyczy praca, są one istotne i nowe.

Zastosowanie trzech zaawansowanych metod pomiarowych w badaniach zmian biochemicznych w tkankach we wczesnych fazach otyłości i spowodowanych zastosowaniem tDCS zasługuje na uznanie i uwagę i według mojej najlepszej wiedzy nie było wcześniej praktykowane w tym kontekście.

Jak podkreśliłem wcześniej uzyskane i zaprezentowane wyniki mogą stanowić znakomity punkt wyjścia dla kilku wartościowych i dobrze publikowanych prac oryginalnych.

Ocena, czy rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną Kandydatki do stopnia doktora w dyscyplinie nauki fizyczne oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej

Skuteczne i właściwe zastosowanie w zrealizowanych projektach metod pomiarowych, które są metodami fizycznymi, dowodzą, że kandydatka prezentuje wysoki poziom wiedzy ogólnej w dyscyplinie nauki fizyczne. Świadczą o tym również części pracy dotyczące zagadnień teoretycznych.

Należy podkreślić, że zaangażowanie Kandydatki w pomiary w miejscu, jakim jest laboratorium Elettra w Trieście i praca z promieniowaniem synchrotronowym, pozwoliło jej zdecydowanie podnieść kwalifikacje naukowe. Miała bowiem okazję obserwować pracę wielu wybitnych naukowców zaangażowanych w pracę naukową w ramach projektów międzynarodowych.

Liczne niedociągnięcia pracy wymienione w tej recenzji świadczą o tym, że warsztat naukowy Kandydatki wymaga dalszego rozwoju, ale jestem przekonany, że już teraz jest ona zdolna do samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Najważniejszą zmianą nad którą powinna popracować, to wyzbycie się tendencji do „naukowego ciągnięcia zbyt wielu srok za ogon równocześnie”.

Ocena indywidualnego wkładu Kandydata do stopnia doktora w powstanie pracy

Ogromna ilość pozyskanych wyników, konieczność prowadzenia hodowli zwierząt eksperymentalnych, przygotowania próbek, przeprowadzenia pomiarów i analizy uzyskanych danych stanowiła ogromne wyzwanie i stanowiła niewątpliwie duży wysiłek. Z pewnością praca ta wymagała współpracy całego zespołu, którego Autorka była częścią. W bibliografii znalazłem 18 prac członków zespołu w ramach którego Kandydatka prowadziła badania. Pierwsze prace związane z prezentowaną tematyką powstawały około roku 2005. Trzy prace oryginalne, w których Kandydatka była współautorem zostały opublikowane dopiero w latach 2022-23. W dwóch z nich pani magister Kaja Piana jest drugą autorką, ale w żadnej nie jest autorka pierwszą.

W takiej sytuacji rodzi się pytanie, jaki jest wkład Kandydatki w uzyskanie wyników zaprezentowanych w pracy. Uważam, że Autorka powinna jasno określić swój udział w powstawaniu pracy w sytuacji, gdy nie została opublikowana żadna praca oryginalna, której byłaby pierwszą autorką. Jedynym miejscem, na podstawie którego można wyciągać na ten temat wnioski są podziękowania umieszczone w pracy i skierowane do jej współpracowników i mentorów. Na szczęście ich treść wyraźnie sugeruje, że większość prezentowanych wyników stanowią dokonania Kandydatki.

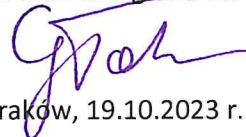
Konkluzje

Czytelnik niniejszej recenzji z pewnością zauważy, że koncentruje się ona na dość licznych wadach ocenianego opracowania. Jak każda recenzja, niniejsza nie jest z pewnością pozbawiona pewnej dozy subiektywizmu. Pomimo licznych uwag jestem przekonany, że praca zasługuje na uznanie i potwierdza wiedzę i umiejętności Kandydatki pozwalające jej na samodzielne prowadzenie badań naukowych i dalszy pomyślny rozwój naukowy.

Biorąc pod uwagę szczegółowo opisane w niniejszej recenzji zalety i wady ocenianej pracy doktorskiej uważam, że spełnia ona warunki określone w art. 13 ust 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (t.j. Dz. U. z 2017 r. poz. 1789) w związku z art. 179 ust. 1 i ust 2. ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. zm.).

Z tego powodu wnioskuję o kontynuowanie procedury mającej na celu nadanie stopnia doktora w zakresie dyscypliny nauki fizyczne mgr inż. Kai Pianie.

Dr hab. Grzegorz Tatoń



Kraków, 19.10.2023 r.