



Instytut Fizyki Molekularnej Polskiej Akademii Nauk

Mariana Smoluchowskiego 17, 60-179 Poznań
tel. 61 8695 112, 234, fax 61 8684 524
www.ifmpan.poznan.pl

Prof. dr hab. Jadwiga Tritt-Goc

Poznań, 10 maja 2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Weroniki Mazur

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr inż. Weroniki Mazur pt. *The development of NMR imaging applications for nano-and micrometric porous systems in the presence of non-uniform magnetic field gradients* została wykonana na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej oraz na Wydziale Geologii, Geofizyki i Ochrony Środowiska Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie, pod kierunkiem naukowym dra hab. Artura Krzyżaka, prof. AGH i prof. dra hab. Czesława Kapusty. Praca była finansowana ze środków Programu POWR, STRATEGMED2 oraz Agencję Badań Medycznych.

Rozprawa ma formę spójnego tematycznie cyklu 6 oryginalnych artykułów naukowych w języku angielskim, opublikowanych w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Przygotowanie rozprawy doktorskiej w takiej formie dopuszczają przepisy *Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki*. Cykl publikacji uzupełniony jest o krótki Przewodnik napisany również w języku angielskim i zawierający streszczenie w języku polskim i angielskim, listę używanych skrótów, wyjaśnienie motywacji i celu badań stanowiących przedmiot rozprawy, krótkie wprowadzenie do teorii magnetycznego rezonansu jądrowego i obrazowania metodą rezonansu magnetycznego, przedstawienie materiałów stanowiących przedmiot badań, krótkie streszczenie publikacji wchodzących w skład doktoratu i podsumowanie oraz wykaz cytowanej literatury. Przewodnik kończy wykaz konferencji, w których uczestniczyła Pani mgr inż. Weronika Mazur, projektów grantowych, w których była wykonawcą, otrzymanych wyróżnień oraz publikacji niewchodzących w skład doktoratu. Przedruk artykułów, stanowiących zasadniczą część pracy doktorskiej i Przewodnik zostały opracowane w jedną całość.

Informacje o motywacji i celu badań, podstawach teoretycznych rezonansu magnetycznego i stosowanych metod badawczych zawarte w Przewodniku zostały opisane wyczerpująco. Literatura jest odpowiednio dobrana i cytowana prawidłowo. Brakuje mi tylko informacji na temat udziału Doktorantki w wykonanych badaniach eksperymentalnych.

Rozprawa doktorska zawiera z następujące publikacje:

A1. **W. Mazur**, A.T. Krzyżak, Attempts at the Characterization of In-Cell Biophysical Processes Non-Invasively-Quantitative NMR Diffusometry of a Model Cellular System, *Cells* **2020**, 9(9), 2124

A2. **A.T. Krzyżak**, I. Habina-Skrzyniarz, **W. Mazur**, M. Sułkowski, M. Kot, M. Majka, Nuclear magnetic resonance footprint of Wharton Jelly mesenchymal stem cells death mechanisms and distinctive in-cell biophysical properties in vitro, *Journal of Cellular and Molecular Medicine* **2022**, 26(5), 1501

A3. **W. Mazur**, M. Urbańczyk-Zawadzka, R. Banys, R. Obuchowicz, M. Trystula, A.T. Krzyżak, Diffusion as a Natural Contrast in MR Imaging of Peripheral Artery Disease (PAD) Tissue Changes. A Case Study of the Clinical Application of DTI for a Patient with Chronic Calf Muscles Ischemia, *Diagnostics* **2021**, 11(1), 92

A4. **W. Mazur**, M. Urbańczyk-Zawadzka, R. Banyś, R. Obuchowicz, M. Trystula, A.T. Krzyżak, Diffusion tensor imaging as a tool to assess the structure of lower limb muscles invisible on T1-and T2-weighted images in the course of the chronic phase of peripheral artery disease, *Advances in Interventional cardiology/Postępy w Kardiologii Interwencyjnej* **2022**, 18, 1

A5. A. T. Krzyżak, **W. Mazur**, J. Matyszkiewicz, A. Kochman, Identification of Proton Populations in Cherts as Natural Analogues of Pure Silica Materials by Means of Low Field NMR, *J. Phys. Chem. C* **2020**, 124, 9, 5225

6. A. T. Krzyżak, **W. Mazur**, A. Fheed, w. P. Weglarz, Prospects and Challenges for the Spatial Quantification of the Diffusion of Fluids Containing H-1 in the Pore System of Rock Cores, *Journal of Geophysical Research-Solid Earth* **2022**, 127, 1

Za niedociągnięcie w przygotowaniu ostatecznej formy rozprawy uważam brak załączonego Materiału uzupełniającego do publikacji A1, A2, A5 i A6. Materiał uzupełniający stanowi integralną część publikacji, do której odwołują się autorzy i jest często istotny dla zrozumienia czytanej publikacji.

Prace wchodzące w zakres rozprawy doktorskiej ukazały się drukiem w latach 2020 – 2022, w specjalistycznych czasopismach z bazy Web of Science, z których jedno należy do najlepszych w kategorii Geochemia Geofizyka (praca A6). Punktacja tych czasopism, zgodnie z aktualną punktacją MNiSW, wynosi odpowiednio: 140 pkt (prace A1, A5, A6); 100 pkt. (praca (A2)); 70 pkt (praca A3) oraz 40 pkt (praca A4). Biorąc pod uwagę rangę czasopism, prace zostały już recenzowane przez grono krajowych i/lub zagranicznych recenzentów. Ich opublikowanie oznacza, że uzyskały pozytywną ocenę a to właściwie oznacza, że rozprawa doktorska Pani mg inż. Weroniki Mazur została już w dużej mierze oceniona pozytywnie. Wszystkie prace są jednak wieloautorskie: od dwóch do sześciu autorów. Nie budzi to żadnych moich zastrzeżeń, bowiem w naukach doświadczalnych czy przy prowadzeniu badań interdyscyplinarnych, do których należy recenzowana rozprawa doktorska, rozwiązanie postawionego problemu naukowego wymaga zaangażowania specjalistów z różnych dziedzin i dyscyplin naukowych. Trudno, aby jedna osoba, w szczególności Doktorantka, potrafiła wszystko wykonać samodzielnie. Jeżeli jednak takie wieloautorskie publikacje tworzą rozprawę doktorską, to należy rozważyć wagę rzeczywistego wkładu Doktorantki w przygotowanie poszczególnych publikacji od A1 do A6 i odpowiedzieć na pytanie czy była Ona pomysłodawcą i autorem metody, analizy danych, osobą odpowiedzialną za całość artykułu itp. Zazwyczaj recenzent może dokonać oceny wkładu doktoranta/doktorantki na podstawie oświadczeń współautorów publikacji wchodzących w zakres rozprawy pracy doktorskiej, o ich własnym merytorycznym udziale w przygotowaniu tych publikacji. Takie oświadczenia nie zostały jednak dołączone do recenzowanej pracy doktorskiej co uważam za poważne uchybienie.

Pewnym wyjściem z zaistniałej sytuacji okazały się informacje o wkładzie autorów zamieszczone w publikacjach A1, A2, A3 i A6. Na ich podstawie mogę ocenić dominujący wkład mg inż. Weroniki Mazur w powstanie publikacji A1, jest pierwszym autorem, autorem do korespondencji i uczestniczyła w jej powstanie na wszystkich etapach. Podobnie duży udział wniosła w powstanie publikacji A2, w której jest

trzecim autorem ale, w której uczestniczyła również w procesie zdefiniowania problemu badawczego. Jest to bardzo ważny element wkładu w powstanie publikacji, bo czym innym jest jeśli Doktorantka – współautor wykonuje badania zgodnie z cudzym pomysłem, a czym innym gdy sama jest ko-autorką pomysłu i wedle niego przeprowadziła badania. W pracy A3 Pani Mazur jest pierwszym autorem co już sugeruje jej znaczący wkład w przygotowanie manuskryptu. W pracy A6 jest drugim współautorem i główny jej wkład polegał na przygotowaniu rysunków, współuczestniczeniu w tworzeniu manuskryptu i przygotowywaniu odpowiedzi dla recenzentów. Ten wkład jest też wymieniony w pracach A1, A2, A3 i A6. Niestety, nie mam żadnych informacji odnośnie wkładu doktorantki w powstanie publikacji A4, mogę tylko zakładać, że był znaczący bo jest jej pierwszym autorem. Podobnie sytuacja przedstawia się w przypadku pracy A5, gdzie jest drugim autorem publikacji więc zapewne też odegrała znaczącą rolę w jej powstanie. Reasumując stwierdzam, że mgr inż. Weronika Mazur wniosła znaczący wkład w powstanie publikacji, które składają się na Jej rozprawę doktorską.

Cykl publikacji został zebrany pod wspólnym tytułem *The development of NMR imaging applications for nano-and micrometric porous systems in the presence of non-uniform magnetic field gradients*. Odnoszę wrażenie, że Doktorantka zamiennie używa pojęcia *NMR* i *NMR imaging*,

Na stronie 3 Przewodnika pisze: *The dissertation concerns the application of nuclear magnetic resonance (NMR) for nano-and micrometric studies.....*

dalej: *The major goal of this research is to improve existing and find new NMR imaging applications in....*

Na stronie 11 Przewodnika pisze : *The aim of this doctoral thesis is the development of new applications of NMR in various porous systems.....*

Na stronie 59: *In the series of papers constituting the dissertation, new applications of NMR imaging in non-uniform magnetic field gradients were presented.*

W powszechnym rozumieniu, *NMR imaging* to obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego służące do uzyskiwanie obrazów wnętrza badanych obiektów. Innym rozwiązaniem jest metoda obrazowania tensora dyfuzji (DTI-Diffusion Tensor Imaging) stosowana do badania procesów dyfuzji w materiałach porowatych, dzięki której możemy uzyskać informacje o mikrostrukturze. W tej metodzie, poza gradientami stałego pola magnetycznego wykorzystywanymi do obrazowania, stosuje się dodatkowe gradienty służące do pomiaru dyfuzji. Tensor dyfuzji jest wyznaczany dla każdej, najmniejszej, określonej przez warunki eksperymentu, objętości badanej próbki (tzw. woksela). Informacje o parametrach charakteryzujących gradient dyfuzji takich jak amplituda, kształt i zależność czasowa, dla danej sekwencji obrazowania i dla danego kierunku gradientu dyfuzji zawarte są w macierzy b , zwanej macierzą gradientową (w równaniu Stejskala-Tanera parametr b). W skanerach MRI stosuje się standardową, uproszczoną procedurę numerycznego obliczania macierzy b , która jest niedokładna i prowadzi do wyznaczenia wartości własnych i kierunków własnych tensorów dyfuzji ze znaczną niedokładnością dla każdego woksela obrazowanej metodą DTI próbki. Ten słaby punkt metody DTI, szczególnie biorąc pod uwagę jej rosnące zastosowanie w badaniach materiałów porowatych, został rozwiązany dzięki nowej metodzie obrazowania tensora dyfuzji, zwanej BSD-DTI, która opiera się na założeniu przestrzennego rozkładu macierzy b określonej przy wykorzystaniu izotropowych i anizotropowych fantomów a której teoretyczne podstawy przedstawił prof. A. Krzyżak.

Pani mgr inż. Weronika Mazur wykorzystywała właśnie tę metodę obrazowania w swoich badaniach. Dlatego uważam, że tytuł rozprawy jest dobrze dobrany i adekwatny do metod wykorzystanych do badań prezentowanych w publikacjach wchodzących w skład rozprawy. Moje wątpliwości budzi jedynie dołączenie pracy A5 do cyklu publikacji, bo dotyczy ona pomiarów 1D T1, 1D T2 i 2D T1-T2.

Celem rozprawy doktorskiej Pani mgr inż. Weroniki Mazur było wykorzystanie istniejących i znalezienie nowych zastosowań obrazowania metodą rezonansu magnetycznego (MRI) do pełnej charakteryzacji porowatych układów mikrostrukturalnych na przykładzie wybranych układów biologicznych, tkanek i obiektów geologicznych. Podjęta tematyka badawcza i pomysł dalszego rozwoju metod MRI jest niewątpliwie ważny i ciekawy dla naukowców ale przede wszystkim jest ważny z punktu widzenia potencjalnych dalszych zastosowań, które ciągle nie nadążają za rozwojem nowych metod MRI. Brakuje mi w tej rozprawie doktorskiej jasno sformułowanej tezy doktorskiej (badawczej), która przecież jest nierozdzielnie z nią związana, i którą należy w rozprawie doktorskiej udowodnić na podstawie przeprowadzonych badań.

W pracy A1 przedmiotem badań był układ komórkowy wykonany z drożdży piekarskich, ponieważ są one powszechnie dostępne i dobrze scharakteryzowane. Dzięki zastosowaniu badań zależnego od czasu współczynnika dyfuzji w silnym stałym gradiencie pola magnetycznego (24 T/m) udało się uzyskać informacje o geometrii i dynamice wody w strukturach komórkowych. Do interpretacji wyników zastosowano po raz pierwszy trójkompartamentowy (trójprzedziałowy) model dyfuzji, w którym jeden z przedziałów jest znacznie mniejszy niż 1 μm i jest związany z organelami komórkowymi. Pokazano, że dyfuzometria NMR może być wykorzystana do badania procesów biofizycznych zachodzących znacznie poniżej poziomu zewnątrz- i wewnątrzkomórkowego i co ważne, że organelle komórkowe można badać pod kątem ich właściwości biofizycznych za pomocą NMR-MoUSE, czego nigdy wcześniej nie osiągnięto za pomocą dyfuzyjnego NMR bez izolacji danej struktury.

Metodologię opracowaną na modelowym układzie drożdży piekarskich wykorzystano do badania układów mezenchymalnych komórek macierzystych Wharton Jelly a wyniki badań przedstawia **praca A2**. Komórki te pochodzące z ludzkiej pępowiny, stanowią obiecujące źródło komórek macierzystych zdolnych do różnicowania się w takie typy komórek jak astrocyty, adipocyty, miocyty, kardiomiocyty i neurony ale nie mogą jeszcze być w pełni wykorzystywane w medycynie regeneracyjnej z uwagi na brak wystarczających informacji na temat ich biologii i zachowania po iniekcji. Wykonane przez Doktorantkę badania stanowią krok w poszerzenie tej wiedzy i dostarczają informacji o własnościach biofizycznych oraz dotyczących mikrostruktury, uzyskanych bez zastosowania środków kontrastujących. Do najważniejszych wyników tej pracy należy zaliczyć rozróżnienie w sygnale NMR składowej pochodzącej od jądra komórkowego i na tej podstawie wykazanie dwóch mechanizmów śmierci komórki (nekroza i apoptoza).

Prace A3 i A4 dotyczą wykorzystania metody BSD-DTI do badań *in-vivo* mięśni szkieletowych podudzi pacjentów w chorobie niedokrwiennej leczonych komórkami macierzystymi. Wykazano, że parametry tensora dyfuzji z poprawkami przy użyciu metody rozkładu przestrzennego macierzy b (BSD-DTI) mogą stanowić naturalny marker stanu mięśni szkieletowych w chorobie niedokrwiennej a także monitorować regenerację mięśni poddanych terapii komórkami macierzystymi.

Prace A5 i A6 dotyczą badań naturalnych materiałów porowatych: próbek rdzeni skalnych. W przypadku czertów (A5) pomiary procesów relaksacyjnych w niskim polu magnetycznym pozwoliły na rozróżnienie czertów typu „bedded” i „nodular” tylko na podstawie cech mikrostruktury (w tym wielkość i przestrzenne rozmieszczenie porów). Głównym celem **pracy A6** było wykazanie przydatności metody DTI w petrofizycznej charakterystyce skał i omówienie jej mocnych stron. Jako przykład zbadano próbkę rdzenia węglanowego. Autorzy pracy wykazali, że zastosowanie metody obrazowania tensora dyfuzji DTI do badania skał węglowych pozwala na wyznaczenie szeregu parametrów geofizycznych (np. wyznaczania rozkładu wielkości porów, krętości, przewodnictwa) w tym nowego parametru, który może odzwierciedlać przepuszczalność.

Lektura cyklu 6 oryginalnych artykułów naukowych pozwala mi stwierdzić, że cel rozprawy został zrealizowany. Autorka pokazała, że metody magnetycznego rezonansu magnetycznego takie jak pomiar dyfuzji w stałym bardzo silnym gradiencie pola magnetycznego (24 T/m), pomiar czasów relaksacji T_1 i T_2 w słabym polu magnetycznym czy też metody obrazowania tensora dyfuzji mogą z powodzeniem być wykorzystywane do badania drożdży piekarniczych, mezenchymalnych komórek macierzystych, próbek rdzeni skalnych i próbek węglanowych, czyli bardzo różnych materiałów porowatych. Uzyskane wyniki są komplementarne z otrzymanymi dla danego materiału innymi metodami a w niektórych przypadkach nawet bardziej obiecujące i nowe. Publikacje zawierają poprawnie zinterpretowany materiał eksperymentalny uzupełniony o symulacje błądzenia losowego (random walk), zależnego od czasu współczynnika dyfuzji, (TDDC) i co najważniejsze, zawierają elementy nowatorskie. Najbardziej ciekawe wyniki, w moim odczuciu, związane są z pracami A2, A3 i A4, czyli wykorzystanie metody BSD-DTI w badaniach *in-vivo*, do monitorowania stanu i struktury mięśni przed i po terapii komórkami macierzystymi. Jest to aktualnie jedyna nieinwazyjna metoda służąca do tego celu.

We wszystkich omawianych pracach cytowana literatura jest starannie dobrana i aktualna. Prace zawierają wszystkie niezbędne informacje do zrozumienia ich treści bez konieczności odwoływania się do cytowanej literatury. Nie znalazłam w nich błędów merytorycznych i językowych co nie dziwi, bo przecież zostały one poddane już recenzji i jeśli takowe błędy wychwycono, to zostały poprawione przez autorów prac przed ich ostateczną akceptacją do druku.

Podczas obrony proszę o sformułowanie tezy doktorskiej oraz odpowiedzi na następujące pytania:

1. Gdzie wykonano badania materiałów ? Np. badanie NMR czertów (A5), pomiary dyfuzji NMR drożdży piekarniczych (A1), komórek macierzystych (A3) czy obrazów tomograficznych mięśni podudzi (A4). Autorzy publikacji podają tylko nazwy spektrometrów bez nazw laboratoriów, tych informacji nie znalazłam również w Przewodniku dołączonym do cyklu publikacji.
2. Czy Doktorantka wykonywała któreś z badań samodzielnie, czy tylko uczestniczyła w ich wykonywaniu, czy też badania były zlecane a Doktorantka opracowywała wyniki badań?
3. Dlaczego w pracy A5 nie pokazano obrazów SEM mierzonych próbek czertów (krzemionkowych)? Obrazy te uzupełniłyby ich opis zamieszczony w pracy i pozwoliły na bliższe wyobrażenie materiału badawczego, szczególnie dla osób, które na co dzień nie pracują z takim materiałem.

4. Dlaczego pomiary 1D T1, 1D T2 czy 2D T1-T2 (praca A5) nazywa Pani obrazowaniem NMR? To sugeruje dołączenie publikacji A5 do cyklu publikacji pod wspólnym tytułem *The development of NMR imaging applications*....

Dobrze oceniam dorobek naukowy Pani mgr inż. Weroniki Mazur. Jest współautorką łącznie 11 publikacji naukowych, w 6. jest pierwszym autorem. Prace te były cytowane 37 razy (bez autocytowań), indeks Hirscha jest równy 4 (dane wg bazy Web of Science z dnia 9 maja br.). Przedstawione dane świadczą już o rozpoznawalności Doktorantki w środowisku naukowym. Ponadto, na podkreślenie zasługuje duża aktywność Doktorantki w prezentacji wyników prac badawczych, zarówno w postaci wykładów jak i posterów, na prestiżowych, międzynarodowych konferencjach związanych z obrazowaniem magnetycznego rezonansu jądrowego (5 prezentacji ustnych i 6 plakatowych) oraz uzyskanie dwukrotnie stypendium na prezentacje prac na konferencjach ENC w roku 2022 i 2023. Doktorantka była również wykonawcą w 3 projektach grantowych.

Uważam, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Weroniki Mazur ma jasno sprecyzowany cel, spójną tematykę, bardzo obszerny i poprawnie zinterpretowany materiał badawczy a jej tematyka jest aktualna i wzbudza zainteresowanie w środowisku naukowym o czym świadczą już cytowania publikacji (kilkanaście cytowań bez autocytowań). Badania mgr Weroniki Mazur mają charakter badań podstawowych ale bardzo silnie powiązanych z ich praktycznym zastosowaniem. Zasługują na uwagę bo wnoszą elementy nowości do badań materiałów porowatych. Doktorantka zaprezentowała ogólną wiedzę teoretyczną, umiejętności eksperymentalne oraz umiejętność prowadzenia pracy naukowej w zakresie fizyki materiałów porowatych a także wykazała się zdolnością współpracy w zespołach interdyscyplinarnych.

W podsumowaniu recenzji stwierdzam, że rozprawa doktorska mgr inż. Weroniki Mazur pt. *The development of NMR imaging applications for nano-and micrometric porous systems in the presence of non-uniform magnetic field gradients* spełnia warunki stawiane rozprawom doktorskim w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.). W związku z tym wnoszę o dopuszczenie Pani mgr inż. Weroniki Mazur do dalszych etapów przewodu doktorskiego, w tym do publicznej obrony.

