

## ZAKŁAD FIZYKI MEDYCZNEJ

Gliwice 30.06.2017 r.

### RECENZJA

#### Pracy Doktorskiej

Mgra inż. Krzysztofa Kłodowskiego

*Development of the b-matrix spatial distribution diffusion tensor imaging with applications in porous media and soft tissue imaging*

przedstawionej Wydziałowi Fizyki i Informatyki Stosowanej Akademii Górniczo-Hutniczej

im. Stanisława Staszica w Krakowie

Promotor pracy: Prof. dr hab. Henryk Figiel

*Wydział Fizyki i Informatyki Stosowanej AGH*

Promotor pomocniczy: dr Artur T. Krzyżak

*Wydział Geologii, Geofizyki i Ochrony Środowiska AGH*

#### 1. Przedmiot recenzji

Rozprawa doktorska mgra Krzysztofa Kłodowskiego dotyczy zoptymalizowania i uproszczenia procedury określania przestrzennego rozkładu macierzy-b w technice kalibracyjnej BSD-DTI (*B-matrix Spatial Distribution in-Diffusion Tensor Imaging*). Rozprawa została napisana pod kierunkiem Profesora Henryka Figla z Wydziału Fizyki i Informatyki Stosowanej Akademii Górniczo-Hutniczej im. Stanisława Staszica w Krakowie i Promotora pomocniczego, dra Artura Krzyżaka z Wydziału Geologii, Geofizyki i Ochrony Środowiska AGH.

Językiem rozprawy jest język angielski, a obejmuje ona rozdziały wstępne, w tym streszczenia (po polsku i angielsku), sześć rozdziałów głównych oraz piśmiennictwo. W wersji elektronicznej dołączone zostały pełne tabele danych dla systemu laboratoryjnego firmy Bruker (9.4 T) oraz dla 3-Teslowych klinicznych skanerów MR firm GE i Siemens (Dodatki A, B i C). 92-stronicowa praca zawiera 28 tabel, jest bogato ilustrowana, a zdjęcia i obrazy są dobrej jakości, co przekłada się na przyjazność tego trudnego opracowania. W wykazie piśmiennictwa uwzględniono 67 pozycji. Doktorant wykorzystał w pracy doktorskiej materiał publikacji, której jest pierwszym autorem (pozycja [55] piśmiennictwa, IF = 2.33) oraz trzy inne publikacje z własnym współautorstwem (publikacja [29] + publikacje pokonferencyjne [56] i [27]).

Struktura rozprawy (kolejność rozdziałów, proporcje między poszczególnymi rozdziałami, kompletność tez, obecność założeń metodologicznych pracy w tym metod, technik i narzędzi badawczych itp.) jest typowa dla prac eksperymentalnych.

## 2. Ocena merytoryczna

Historia badań zależności między dyfuzją a sygnałem rejestrowanym w zjawisku magnetycznego rezonansu jądrowego sięga połowy ubiegłego stulecia. Doktorant wpisuje się w tę historię zajmując się innowacyjną techniką kalibracyjną BSD-DTI, rozwijaną od kilku lat przez grupę naukowców krakowskich, głównie przez Promotora pomocniczego, a przydatną w pomiarach dyfuzyjnych i metodach rekonstrukcji obrazu.

Ponieważ 60-70% ludzkiego ciała to woda, obrazowanie jej ruchu w tkance – a więc obrazowanie MR zależne od dyfuzji – budzi coraz większe zainteresowanie naukowe i medyczne, dodaje bowiem wymiar funkcjonalny do anatomicznego obrazowania technikami MR. Pomiary dyfuzyjne umożliwiają opisanie mikrostruktury badanego obiektu, a w przypadku tkanki dostarczają informacji na temat gęstości komórkowej i integralności błon komórkowych. Technika oparta jest na detekcji dyfuzji cząsteczek wody w przestrzeni zewnątrzkomórkowej tkanek. W badaniu dyfuzyjnym oceniana jest wielkość dyfuzji wody w objętości tkanki, wyrażona w postaci pozornego współczynnika dyfuzji ADC (ang. *Apparent Diffusion Coefficient*) – pozornego, bo obecność struktur komórkowych wpływa na losowy ruch cząsteczek wody i prowadzi do współczynnika dyfuzji, który jest mniejszy niż dla czystej wody, oraz stopień anizotropii badanej struktury – wyraża ją parametr FA (ang. *Fractional Anisotropy*), a jego wartości mieszczą się w zakresie od 0 (struktura izotropowa) do 1 (struktura, w której dyfuzja jest możliwa wyłącznie w jednym kierunku). W medycynie i biofizyce ta technika obrazowania okazuje się być szczególnie przydatna w badaniach MR ośrodkowego układu nerwowego oraz mięśni – ze względu na włóknistą budowę obu układów. Ale także w narządach miękkich, na przykład takich jak wątroba czy śledziona, jest coraz częściej stosowana. Rozwija się też dyfuzyjny funkcjonalny rezonans magnetyczny, DfMRI, stając się samodzielnym narzędziem.

Ze względu na anizotropowy charakter dyfuzji w tkance i symetrię tensora dyfuzji, w eksperymencie DTI do pełnego opisu anizotropii potrzebne jest wykonanie serii pomiarów z gradientami pola kodującymi dyfuzję w niewspółliniowych i niewspółplanarnych kierunkach, i jednego dodatkowego pomiaru odniesienia z wyłączonymi gradientami. Następnie numerycznie wyznaczone są składowe tensora dyfuzji. Liczba kierunków gradientów zależy od badanego obiektu. Do pomiaru DWI w materii szarej mózgu wystarczą 3 ortogonalne kierunki plus  $b_0$ , bo substancja szara jest izotropowa. W substancji białej to 6 kierunków plus  $b_0$ . Pomiary DTI i wyznaczenie parametru FA dla całego mózgowia wymagają minimum 6 kierunków, ale 20 to liczba optymalna.

Parametry gradientów dla danej sekwencji są uwzględniane w symetrycznej macierzy-b. Dostawcy tomografów MR zazwyczaj udostępniają postać przybliżoną macierzy-b, odpowiednią dla danego typu skanera MR. Na wartości elementów macierzy wpływają czynniki aparaturowe, takie jak gradienty obrazowe, efekty prądów wirowych i inne zakłócenia tła. Tak

więc, wyniki uzyskane techniką dyfuzyjną są obarczone błędami systematycznymi, a porównanie danych z różnych skanerów wykazuje różnice. Od strony klinicznej są one jednak akceptowalne, na co wskazują prace wieloośrodkowe [przykłady: Zhu T, Hu R, Qiu X, et al. Quantification of Accuracy and Precision of Multi-Center DTI Measurements: A Diffusion Phantom and Human Brain Study. *NeuroImage*. 2011;56(3):1398-1411. doi:10.1016/j.neuroimage.2011.02.010, czy Grech-Sollars M et al. Multi-centre reproducibility of diffusion MRI parameters for clinical sequences in the brain. *NMR Biomed*. 2015 Apr; 28(4): 468–485 – praca [62] w spisie publikacji rozprawy, czy Palacios XEM et al. Toward Precision and Reproducibility of Diffusion Tensor Imaging: A Multicenter Diffusion Phantom and Traveling Volunteer Study. *AJNR Am J Neuroradiol* 2017, <http://dx.doi.org/10.3174/ajnr.A5025>].

Możliwe jest dokładne wyznaczenie macierzy-b, jednak znacznie wydłuża to czas akwizycji. Z kolei metody bazujące na czysto analitycznym wyznaczaniu tensora dyfuzji także mają swoje wady. Prawidłowo wyznaczona macierz-b oraz zarejestrowanie wystarczająco dużej liczby przejść to czynniki, które pozwalają uniknąć zafałszowania informacji o anizotropii.

W pracy doktorskiej proponowana jest technika kalibracji sekwencji obrazowania dyfuzyjnego w oparciu o specjalne fantomy – izotropowy i anizotropowy. Konkretnie rozwiązania zostały objęte międzynarodową ochroną patentową – właścicielem patentu [54] jest Promotor pomocniczy. W publikacji [55], której pierwszym autorem jest Doktorant, opisany został fantom anizotropowy – charakteryzuje się on dobrze zdefiniowaną strukturą oraz anizotropią tensora dyfuzji, co jest niezbędne w metodzie BSD-DTI. Cieszy udział Doktoranta w pracach innowacyjnych.

Jako cel swojej pracy doktorskiej Pan Krzysztof Kłodowski wskazał uproszczenie techniki BSD-DTI tak, by uczynić z niej wiarygodne i szeroko stosowane narzędzie ilościowych pomiarów dyfuzyjnych. W pracy Doktorant zastosował dwa uproszczenia kalibracji: założył jednorodność przestrzenną ważenia dyfuzyjnego oraz jednorodność fantomu anizotropowego. Uproszczenia te, zredukowały liczbę niezbędnych do kalibracji położzeń fantomu anizotropowego do trzech, jak również uprościły obliczenia. Jest to kierunek prowadzący do stworzenia uniwersalnego systemu kalibracyjnego, który nie tylko uściśla uzyskiwane dane dyfuzyjne, ale mógłby być przydatny na przykład w procedurach kontroli jakości. Uważam tę tematykę za potrzebną zarówno z naukowego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia.

### 3. Ocena szczegółowa

Praca doktorska jest oparta na eksperymencie aplikacyjnym i to narzuca jej określony schemat. Otwiera ją *Streszczenie (Abstract)* po polsku i angielsku. Kolejne rozdziały napisane zostały wyłącznie po angielsku.

**Rozdział 1. Introduction (strony 13-14)** stanowi mapę drogową rozprawy. Doktorant wyklada tu zasadniczy cel rozprawy, określa też jej strukturę – opiera się ona na tradycyjnym podziale na część teoretyczną (Rozdział 2.), eksperymentalną (Rozdział 3.), obliczeniową (Rozdział 4.), prezentującą wyniki (Rozdział 5.) oraz część obejmującą dyskusję i wnioski (Rozdział 6.). W tym wstępnym rozdziale Doktorant precyzuje też swój wkład oraz wkłady innych członków grupy badawczej, dzięki którym możliwe stało się prowadzenie badań o takiej tematyce.

**Rozdział 2. Theory (strony 15-31)** to kompendium wiedzy teoretycznej, ograniczone do niezbędnego minimum potrzebnego dla rozumienia omawianych dalej zagadnień eksperymentalnych. Doktorant wprowadza Czytelnika w podstawy teorii dyfuzji: podaje klasyczne prawa Ficka oraz zapoznaje Czytelnika z Einsteinowskim opisem dyfuzji. Następnie wyłożone zostają podstawy kwantowego opisu zjawiska NMR oraz opisane procesy fizyczne stowarzyszone z tym zjawiskiem. Wreszcie, na tle fizycznych aspektów techniki DTI prezentowana jest specyfika techniki BSD-DTI.

Mam drobny komentarz do omówienia zagadnień relaksacji na **stronie 23**. Autor informuje, że zazwyczaj czas relaksacji T2 jest wyraźnie krótszy niż czas T1. Ponieważ opis relaksacji jest tu utrzymywany na poziomie ogólności, to konieczne jest raczej podanie ogólnej relacji między T2 a T1, a mówi ona, że  $T2 \leq T1$ . W ciałach stałych czy w tkankach czasy T2 są rzeczywiście znacznie krótsze niż czasy T1, ale w nielepkich cieczach (jak na przykład woda) mogą być porównywalne. Są też nieliczne doniesienia, że w niezwykle rzadkich przypadkach można zbudować takie systemy molekularne (często w niskich temperaturach połączonych z kąpielami kwantowymi), gdzie T2 jest nieco większe niż T1 [Traficante DD. Relaxation. Can T2 be longer than T1? Concepts Magn Reson 1991; 3:171-177] [Emondts M et al. Long-lived heteronuclear spin-singlet states eprint arXiv:1310.1291v1 [physics.chem-ph] 4 Oct 2013, Emondts M et al. Long-lived heteronuclear spin-singlet states in liquids at a zero magnetic field. Phys Rev Lett. 2014 Feb 21;112(7):077601. Epub 2014 Feb 18].

Część eksperymentalna pracy rozpoczyna się od **Rozdziału 3. Experiments (strony 32-45)**. Doktorant uzasadnia potrzebę stosowania fantomów anizotropowych. Następnie prezentuje dotychczasowe osiągnięcia w tej materii. Wreszcie, w sposób syntetyczny opisuje rozwiązania, w których tworzeniu uczestniczył, i drogę ich ewolucji (prace [55], [56]). Drogę tę wyznaczają kolejne generacje fantomów. Fantomy te zostały zastosowane do kalibracji sekwencji dyfuzyjnych na laboratoryjnym skanerze Bruker 9.4 T oraz dwóch skanerach klinicznych (GE 3.0 T i Siemens 3.0 T). Kluczową sprawą w kalibracjach fantomowych jest precyzja pozycjonowania fantomu. Autor rozwiązał problem pozycjonowania stosując goniometryczne zamocowanie fantomów. Parametry sekwencji dla pomiarów fantomowych przedstawione zostały w tabelach 3.2, 3.4 i 3.6. Ich analiza prowokuje pytanie o brak zharmonizowania parametrów sekwencji. Pomiaru wysokopolowe mają swoją specyfikę – w przypadku skanera 9.4 T inne są obiekty badane, inne wymiary pola, inna jest jego jednorodność, inne są charakterystyki gradientów, wartości SNR (ang. *Signal-to-Noise Ratio*) i CNR (ang. *Contrast-to-Noise Ratio*) niż dla systemów 3 T, więc system laboratoryjny można potraktować odrębnie. Szkoda jednak, że w przypadku skanerów klinicznych nie przeprowadzono badań porównawczych także przy użyciu protokołów zharmonizowanych. Myślę, że Doktorant wzmocniłby swoje wnioski, procedura kalibracji przy użyciu specjalizowanych fantomów zostałaby zobiektywizowana, a ewentualny wpływ parametrów sekwencji zostałby określony lub wykluczony. Patrząc bowiem na nią także z punktu widzenia jej użyteczności w uniwersalnych procedurach QA/QC, których w tej chwili brak. Także porównania ilościowe danych DTI z różnych skanerów, o czym Autor wspomina na stronie 83. przywołując pracę [62], byłyby prostsze.

W **Rozdziale 4. Calculations (strony 46-50)** Doktorant zaznajamia Czytelnika ze sposobem implementacji równania Stejskala-Tannera do postaci macierzowej. Jest to jeden z etapów przygotowanie narzędzia umożliwiającego porównanie

DTI i BSD-DTI poprzez relacje macierzy-b. W pierwszym przypadku jest ona przybliżona i stała we wszystkich wokselach analizowanej objętości, w drugim pochodzi z pomiarów fantomowych, lecz z uwzględnieniem przyjętych uproszczeń. Narzędzie walidowano korzystając z ParaVision i FSL.

W celu usunięcia szumu, do macierzy-b zastosowano filtry uśredniające: liniowy filtr rozmycia gaussowskiego oraz filtry medianowy i uśredniający. Ten etap jest kluczowy dla jakości generowanych danych i dlatego powinien być szczegółowo omówiony w pracy, także pod kątem efektów filtracji: pozwala ona zwiększyć stosunek sygnału do szumu, SNR (lub CNR) – który jest tu kluczowy, zmniejsza niedoskonałości spowodowane procedurami normalizacji przestrzennej, poprawia moc statystyczną i umożliwia stosowanie metod z obszaru teorii pola losowego RFT (ang. *Random Field Theory*) – sprawdziły się one w analizach fMRI, a pozwalają – choćby – sprawować kontrolę nad rozmiarami masek przy filtracji gaussowskiej.

Generalnie wybór parametrów filtrowania zawsze wymaga ostrożności, ponieważ określi on wielkość różnic, które będą mogły być wykryte, a wygładzanie zwiększy również wielkość efektu uśredniania objętościowego. Techniki filtracji obrazu mogą zmniejszać rozdzielczość, co Autor sam zauważa na stronie 54.

W przypadku filtra gaussowskiego rozmiar maski (jądra) powinien być dobrany zależnie od wartości parametru  $\sigma$  (wariancji) funkcji Gaussa. Często przyjmuje się maskę o rozmiarze  $6\sigma \times 6\sigma$ , aczkolwiek w piśmiennictwie pojawiają się doniesienia o technikach doboru, w tym metodą prób i błędów. Doktorant stosował maski  $3 \times 3$  i  $5 \times 5$  i kilka wartości  $\sigma$  (strona 49).

Usuwanie zakłóceń za pomocą filtrów liniowych, np. Gaussa, nie oznacza fizycznego wyeliminowania zakłócenia. Znacznie lepsze efekty osiągają w takim przypadku filtry nieliniowe, m. in. różne warianty filtrów medianowych. Doktorant zastosował też dwie inne techniki używane w analizie obrazu: metodę dopasowania wielomianu drugiego stopnia dwóch zmiennych za pomocą metody najmniejszych kwadratów – która wykazała się skutecznością – oraz technikę iteratywnego dostrajania macierzy-b – jednak ta ostatnia została uznana za najmniej interesującą. Błędy systematyczne zwizualizowano na mapach macierzy-b, które pozwalają na ocenę przestrzennych zniekształceń gradientów.

Porównanie efektów stosowania tych narzędzi nie jest trywialne. Brakuje mi w pracy procedur optymalizacji filtracji oraz krytycznego spojrzenia na swoje rezultaty z uwzględnieniem doświadczeń innych autorów.

Parametry, które, myślę, warto byłoby wziąć pod uwagę w analizie – a które zostały potraktowane po macoszemu – to stosunek sygnału do szumu, SNR, czy powiązany z nim stosunek kontrastu do szumu, CNR. SNR zależy od sekwencji i jej parametrów, na przykład cechą sekwencji EPI jest niska wartość SNR. Niezależnie od parametrów sekwencji, na wartość SNR, oprócz natężenia stosowanego pola, wpływają też czynniki sprzętowe: charakterystyki gradientów oraz cewek stosowanych w pomiarach (także trzeba wziąć pod uwagę wpływ temperatury, który w związku z różnicami w konstrukcji sekwencji może się ujawnić). Stąd ponownie pojawia się kwestia znajomości wpływu parametrów sekwencji na kalibrację.



Wszystkie techniki obróbki danych były walidowane w ten sam sposób, a wyniki zawarto w **Rozdziale 5. Results (strony 51-80)**. Doktorant zdefiniował parametry jakościowe porównujące obie metody: DTI i BSD-DTI. Punktem wyjścia były odchylenia standardowe wartości własnych uzyskanych odpowiednią metodą. Na przykład współczynniki jakościowe  $k_{SD}$  i  $k_{RA}$  przyjmować powinny wartości  $>1$ , jeśli metoda testowana jest lepsza od standardowej. Wartości zebrano w tabelach 5.1-5.15 i na rysunkach.

W finalnym zadaniu, Doktorant zastosował własną procedurę kalibracyjną do obrazów mózgowia. Wybrał opcje, które w testach okazały się najlepsze, jednak analiza obrazów in vivo głowy mogła być jedynie prowadzona na poziomie jakościowym.

Podsumowanie rozprawy zawarte jest w **Rozdziale 6. Discussion and conclusions (strony 81-84)**. Uproszczona procedura, choć nie przynosi tak dużej poprawy jak pełna procedura kalibracji BSD, jednak jest bardziej praktyczna, ze względu na nadal wyższą precyzję wyznaczenia tensora dyfuzji niż w przypadku techniki nie korzystającej z kalibracji, natomiast zachowuje zyski czasowe względem pełnej procedury kalibracyjnej. Jakie są zyski czasowe ze stosowanych uproszczeń?

#### 4. Strona edytorska i poprawność językowa pracy

Jako, że język angielski jest tylko narzędziem w mojej pracy, nie czuję się upoważniona do recenzowania poprawności językowej. Akceptuję wybór języka angielskiego, jest to przecież język nauki. Uważam, że praca doktorska napisana jest ładnym językiem, w sposób ciekawy, z poczuciem humoru. Jest staranna pod względem redakcyjnym. Doceniam pomysł otwierania poszczególnych rozdziałów mottem. Motta rozbawiają, są intelektualnym wzbogaceniem i skłaniają do przemyśleń sięgających poza świat laboratorium. Pozostaje mi tylko zrewanżować się za nie złotą myślą Konfucjusza: *Uczyć się pilnie i trzymać się swoich dążeń, dociekać z zapalem i zastanawiać się nad sobą: oto polegliwość.*

#### 5. Podsumowanie

Zakres materiału zawarty w rozprawie – bardzo obszerny, choć będący niewielkim wycinkiem badań nad BSD-DTI – jest interesujący i inspirujący. Rozprawa doktorska prezentuje oryginalne rozwiązanie problemu badawczego i praktycznego. Tematyka jest aktualna, zawiera elementy nowości naukowej.

Uważam, że podjęty trudny temat został zrealizowany i udokumentowany prawidłowo, także w publikacjach naukowych z listy filadelfijskiej, a Autor rozprawy potwierdził w niej umiejętność prowadzenia pracy naukowej.

Komentarze zgłaszane przeze mnie w treści recenzji w żadnej mierze nie podważają istoty pracy.

Zamykając recenzję stwierdzam, że rozprawa doktorska mgra inż. Krzysztofa Kłodowskiego proponuje oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i wypełnia wymogi ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. z późn. zm.). Wnioskuje do Rady Naukowej o dopuszczenie Pana Krzysztofa Kłodowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.