

Prof. dr hab. Marian H. Lewandowski

Zakład Neurofizjologii i Chronobiologii
Katedra Fizjologii Zwierząt
Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych
Uniwersytet Jagielloński
Gronostajowa 9, 30-387 Kraków
☎: (+12) 664-53-73
E-mail: marian.lewandowski@uj.edu.pl

O C E N A

rozprawy doktorskiej Pana magistra **Piotra DZWINIELA** pt.

"Modulation of Visual Information Processing in the Human Nervous System Using Non-Invasive Electrical Stimulation"

Przed współczesną neuronauką ośrodkowego układu nerwowego (mózgowia) są dwa podstawowe cele. Z jednej strony coraz lepsze poznanie mechanizmów jego aktywności w warunkach fizjologii i patologii. Z drugiej zaś stworzenie metod i narzędzi do poprawy jego funkcjonowania, szczególnie w stanach dysfunkcji wywołanych starzeniem, chorobą czy urazami. Te ostatnie zagadnienia są przedmiotem naukowego zainteresowania Pana magistra Piotra Dzwiniela, a wyniki prowadzonych badań stanowią podstawę Jego dysertacji.

Autor w pracy doktorskiej postanowił dokonać dogłębnej (krytycznej) analizy aktualnego stanu wiedzy dotyczącej nieinwazyjnej metody okołoooczodołowej stymulacji prądowej i w oparciu o wyniki komputerowego modelowania, będące jednym z celów dysertacji, określić optymalne parametry i warunki elektrycznej stymulacji wpływające na aktywność układu wzrokowego i jego modulację u ludzi. Już te wstępne założenia pracy pokazują bardzo logiczne, przemyślane podejście doktoranta do badanego zagadnienia. Po pierwsze przegląd i analiza aktualnej wiedzy, po drugie stworzenie optymalnego modelu, by na końcu sprawdzić jego działanie w pomiarach doświadczalnych.

Praca ma typowy układ z charakterystycznymi rozdziałami, streszczeniem, detalicznym opisem stosowanych skrótów, spisem literatury i napisana jest w języku angielskim. Badania zrealizowane zostały dzięki finansowemu wsparciu macierzystego Instytutu, Naukowego Centrum Badań i Rozwoju oraz Narodowego Centrum Nauki (grant Preludium). Te ostatnie fakty to silne argumenty popierające zasadność i słuszność podjętych przez doktoranta badań.

Wstęp, jak to zwykle bywa w tego typu opracowaniach, jest wprowadzeniem czytającego w badane zagadnienia. Autor w sposób bardzo jasny, czytelny, określiłbym „poetycko” opisuje układ wzrokowy - przedmiot badań. Poszczególne elementy jego anatomicznej budowy zarówno na poziomie receptorowym, jak i struktur korowych i podkorowych, mechanizmy transdukcji sygnału wzrokowego i jego modulacje. Nie są to kalki informacji z podręczników, przeciwnie autor przedstawia je w oparciu o publikacje naukowe,

także te najnowsze, dodając do kanu wiedzy o układzie wzrokowym zupełnie nowe, ciekawe elementy, bogato ilustrując je czytelnymi rycinami. Doktorant zwraca także uwagę, co jest ważne w kontekście badanego tematu, na dysfunkcje układu wzrokowego, analizuje je na różnych poziomach jego anatomicznej organizacji. Opisując ciało kolankowate boczne (LGN), autor nie do końca precyzyjnie podaje, że zbudowane jest ono z 6 warstw. Jest to prawda, ale tylko w odniesieniu do jego części grzbietowej (dLGN), a nie całego LGN. Dalej autor opisuje lokalne potencjały polowe (LFP), wywołane (EP), w tym badane wzrokowe (VEP). Podkreśla znaczenie stosowanych w pracy technik rejestracji aktywności EEG, MEG. Wszystkie one, jak to ładnie określa autor, są cyt.: „*the central focus of this thesis*”. Dużo miejsca poświęca także aktualnie stosowanym metodom stymulacji prądowej (*direct, alternating current stimulation* i *random noise stimulation*). Najwięcej miejsca poświęca, stosowanej w pracy, stymulacji prądem pulsacyjnym, tłumacząc jej wybór w swoich badaniach. Pan Dzwiniel w oparciu o bogatą literaturę podaje przykłady wpływu bezpośredniej i przezczaszkowej stymulacji elektrycznej na plastyczność kory mózgowej, poprawę procesu widzenia, podkreślając ich znaczenie i nieinwazyjność w neuromodulacji mózgowia. To kolejne, dodatkowe bardzo ważne argumenty sensowności, ważności i znaczenia podjętego tematu badawczego. Wszystkie rozdziały tej części dysertacji są bardzo precyzyjnie i jasno opracowane, często zawierają ciekawe informacje historyczne. **Można zatem z całą mocą stwierdzić, że ogólna wiedza teoretyczna doktoranta w zakresie podjętego tematu badawczego jest bardzo szeroka, ugruntowana i wystarczająca do jego realizacji w ramach dysertacji.**

Główny cel badań realizowany był poprzez określenie stężenia wytwarzanego pola elektrycznego przy okołoooczodołowej pulsacyjnej stymulacji prądowej, a także analizie zmian w aktywności EEG i zachowaniu badanych osób po bodźcu wzrokowym i elektrycznej stymulacji. Autor badał także udział stosowanej stymulacji prądowej (pPCS) w modulowaniu przetwarzania informacji wzrokowej w badanym układzie, w którym impuls prądowy wyprzedzał bodziec wzrokowy. Szczegóły opisu układu stymulującego do wytwarzania pola elektrycznego zawarte są w kolejnym obszernym, szczegółowym i bardzo dobrze napisanym rozdziale pracy – Materiałach i Metodach. W opracowaniu elektrycznego układu stymulującego, autor uwzględniał zarówno położenie (rozmieszczenie) elektrod, ich kształt, a także parametry stymulacji i formę prądu stymulującego tak, aby uzyskać maksymalną skuteczność, przy minimalnej inwazyjności stosowanej stymulacji.

Zasadniczym (kluczowym) celem pracy doktorskiej Pana Dzwiniela było doświadczalne sprawdzenie wcześniej opracowanego modelu układu stymulującego. Realizację zadania podzielił na dwa etapy pomiarowe. W pierwszym podawał pojedynczy sinusoidalny dwufazowy impuls prądowy o różnej amplitudzie i czasie trwania, a także błyski światła LED. Badani reagowali na każdy typ bodźca niezależnie, sygnalizując to komputerowo, przy jednoczesnej, ciągłej rejestracji ich aktywności EEG. W drugim natomiast pojedyncze sinusoidalne dwufazowe impulsy prądu były podawane przed prezentacją bodźca

wzrokowego w formie odwrócenia wzoru szachownicy, aby modulować przetwarzanie informacji związanych z tym bodźcem. W tym badaniu nie rejestrowano odpowiedzi behawioralnych, a analiza eksperymentatora skupiona była wyłącznie na sygnale EEG. W doświadczeniach z udziałem ludzi, kluczowym i krytycznym elementem jest właściwy ich dobór. W pracy brakuje wyjaśnienia, dlaczego nie dokonano podziału grup badawczych na kobiety i mężczyzn? Czy przy doborze (w ankiecie) kandydatów do badań, było pytanie o chronotyp? W jakich porach doby były dokonywane pomiary, czy uwzględniały okołodobową zmienność reakcji osobniczej na podawane bodźce? Czy badane osoby były habituowane do pomiarów? Czy badano poziom stresu? A zatem generalnie, czy brana była pod uwagę zmienność osobnicza badanych osób, mogąca mieć wpływ na otrzymane wyniki? Przykładem może być duża wariancja obserwowana w dynamice zmian amplitudy wzrokowego potencjału wywołanego (Fig. 3-34-36). Na wszystkich etapach, dużej liczby stosowanych przez doktoranta metod, zwraca uwagę precyzja ich opisu i wykonania, zarówno jeśli chodzi o uwzględnianie czynników, które mogły mieć wpływ na etapie modelowania, jak i pomiarów na ludziach. Autor na podstawie wyników wcześniejszych badań innych, próbuje uwzględniać te elementy, które mogą poprawiać skuteczność zaproponowanej stymulacji i eliminować te, które by ją ograniczały. Precyzja opisu i wykonania dotyczy także analizy otrzymanych wyników. Czytając pracę ma się wrażenie, że autor chce z nich „wyciągnąć”, jak najwięcej informacji. Przykładem może być metoda niezależnej analizy składników (*independent component analysis* ICA) przy analizie zapisu EEG. Pomysłowe i niezwykle cenne, szczególnie przy bardzo dużej liczbie wyników, było ich podsumowanie w postaci najważniejszych wniosków po każdym etapie analizy.

Wynikami swoich badań w części modelowania Pan mgr Dzwiniel jednoznacznie stwierdził, że gęstość prądu na powierzchni elektrod, szczególnie tzw. efekt krawędziowy, który wg badań autora jest niezależny od kształtu elektrody, może wpływać na bezpieczeństwo i efektywność stymulacji elektrycznej. Choć wyraźnie zaznacza, że zależy on głównie od ogólnej gęstości prądu, a nie geometrii stosowanych elektrod. Cennym i nowatorskim wynikiem poszukiwania optymalnych warunków stymulacji było wykazanie, że rozkład wielkości pola elektrycznego i gęstości prądu zależą od miejsca umieszczenia elektrod. Pole elektryczne bardziej rozproszone, obserwowane było przy stymulacji czołowo – potylicznej, niż okołoczodołowej. Choć jak zaznacza autor, wybór rodzaju stymulacji zależy od jej celu terapeutycznego, czyli miejsca docelowego oddziaływania. Tu także należy podkreślić, że symulacje elektryczne bliskie gałek ocznych, szczególnie te przy bipolarno-transorbitalnym rozmieszczeniu elektrod były nowatorskie. Ciekawym i bardzo ważnym spostrzeżeniem, stosowanych w pracy symulacjach pól elektrycznych, było wykazanie, że powszechnie do tego stosowany program SimNIBS, zawiera rozbieżne, w stosunku do podawanych przez innych autorów, wartości przewodnictwa różnych tkanek. Doktorant bardzo szczegółowo to analizuje, a Jego konkluzja jest bardzo odważna, zdecydowana i słuszna. Zastanawia się, nie

przypisując złych intencji autorom program SimNIBS, dlaczego przez tak długi czas, były one bezkrytycznie akceptowane, choć od kilku lat powszechnie wiadomo, że zmiany przewodnictwa tkankowego znacząco wpływają na charakterystykę indukowanego pola elektrycznego (IEF) i stanowią podstawę w ustalaniu dawki stymulacyjnej. Jest to ważny element doktoratu, szczególnie biorąc pod uwagę współczesną zindywidualizowaną medycynę, z którą wiążą się także osobnicze strategie dawkowania. Autor w konkluzji tych rozważań, podaje szereg własnych sugestii metodycznych, które mogłyby wpłynąć na poprawę indukowanego pola elektrycznego, a także poleca inne źródła informacji o przewodnictwie tkankowym. Notabene, sam autor uważa, że nieprecyzyjność w określeniu przewodności tkankowej jest jednym z ważnych ograniczeń w tego typu stymulacjach, a zatem także jego doktoratu.

W pomiarach eksperymentalnych na ludziach, w których stosowano układ elektrod okołoooczodołowych, rejestrowano fosfeny i korowe potencjały wywołane, określając ich próg generowania. Prawidłowy współczynnik odpowiedzi i prawidłowy czas odpowiedzi osób badanych, były skorelowane z markerami elektrofizjologicznymi. Dodatkowo przy użyciu modelu Naka-Rushtona wykazano nieliniową zależność generowania fosfenu i amplitudy potencjału wywołanego od amplitudy i czasu trwania prądowego impulsu stymulującego.

W badaniach ze sparowanymi bodźcami: wzrokowym i poprzedzającym go elektrycznym (o różnej amplitudzie i czasie jego trwania), zaobserwowano wyraźne hamowanie wczesnych odpowiedzi korowych potencjałów wywołanych. Dodatkowo, co jest ważne w kontekście neurorehabilitacji, efekt elektrycznej stymulacji obserwowany był poza obszarem bezpośredniego oddziaływania stymulacji pojedynczym impulsem elektrycznym. A to może oznaczać długotrwałe czasowe oddziaływanie pojedynczego impulsu na modulację i kształtowanie się odpowiedzi korowych.

Logicznie, jasno postawiony cel badań, dobór odpowiednich metod badawczych, poczynszy od modelowania przebiegu całego eksperymentu, a potem jego konsekwentne eksperymentalne sprawdzenie (przetestowanie), wielostronna, szeroka i krytycznie dyskutowana analiza otrzymanych wyników, to bardzo mocne dowody potwierdzające umiejętność samodzielnego prowadzenia (od zaplanowania do wykonania) pracy naukowej przez Pana mgr. Dzwiniela.

W dyskusji pracy zwraca także uwagę rozdział dotyczący potencjalnego znaczenia (zastosowania) otrzymanych przez doktoranta wyników w procesie klinicznym i neurorehabilitacji. **Ten aplikacyjny element doktoratu jest jego bardzo mocną stroną.** Autor wymienia cały szereg badań diagnostycznych i schorzeń układu wzrokowego, w których stosowana przez autora stymulacja pojedynczym impulsem prądowym, może mieć zastosowanie. Kluczowe są ostatnie badania potwierdzające znaczenie stosowanej stymulacji przy zmiennych jej parametrach, w procesie selektywnej neuroplastyczności czy integracji komórkowej.

Podsumowując dysertację Pana mgr. Piotra Dzwiniela, chciałbym wyraźnie podkreślić, że założony cel zostały osiągnięte. Autor wykazał na poziomie symulacji, a następnie badań na ludziach, że precyzyjne techniki stymulacji elektrycznej, szczególnie ta, jaką zastosował autor (prądem pulsacyjnym okrężnym o pojedynczym impulsie), mogą nie tylko być skutecznie wykorzystywane w neurorehabilitacji, ale także badań podstawowych w zakresie rozwoju i neuromodulacji układu wzrokowego.

Czytając pracę nie znalazłem błędów edytorskich. Choć na str. 112 autor odnosi swoje rozważania do Fig. 47, której nie ma w pracy. Brakuje także Fig. 3-26 do której autor odnosi się na str. 129.

Moim zdaniem rozprawa doktorska Pana mgr. Piotra Dzwiniela stanowi oryginalne rozwiązanie ważnego problemu naukowego o charakterze aplikacyjnym. Autor wykazał, że pojedynczy impuls stymulacji prądem okołoooczodołowym jest obiecującą metodą neuromodulacji w rehabilitacji układu wzrokowego. Możliwe to było dzięki dużej wiedzy autora, solidnie, logicznie zaplanowanym badaniom modelowym, a następnie sprawdzeniu otrzymanych wyników w konsekwentnie i systematycznie przeprowadzonych trudnych doświadczeniach na ludziach.

Uważam zatem, że rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2023 poz. 742 z późn. zm.). W związku z powyższym, wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Biologii Doświadczalnej o dopuszczenie mgr. Piotra Dzwiniela **do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora.**

Jednocześnie, biorąc pod uwagę moją bardzo pozytywną ocenę pracy doktorskiej, jej aplikacyjny charakter, a także krytyczne podejście autora do otrzymanych wyników, szczegółowo opisane w rozdziale „Ograniczenia i Wyzwania” oraz że badania były wykonywane w ramach dużych projektów badawczych w tym, także autora, a część wyników została już opublikowana, uważam że praca doktorska Pana mgr. Piotra Dzwiniela powinna zostać wyróżniona.