

Dr hab. Agnieszka Banaś
Principal Research Scientist
Singapore Synchrotron Light Source NUS
5 Research Link
117603 Singapore
e-mail: slsba@nus.edu.sg

Singapur, 25 sierpnia 2023

Rozprawa doktorska to ważny etap w karierze naukowej, który wymaga dogłębnego badania, analizy i prezentacji oryginalnego rozwiązania problemu naukowego. Jej celem jest nie tylko wykazanie specjalistycznej wiedzy w danej dziedzinie, ale także umiejętności samodzielnego myślenia i prowadzenia pracy naukowej. Bazując na *Załączniku do uchwały nr 51/V/2023 Senatu Uniwersytetu Jagiellońskiego* (z dnia 31 maja 2023 roku) oraz *Procedurze postępowań w sprawie nadawania stopni naukowych na Uniwersytecie Jagiellońskim*, nasuwają mi się następujące spostrzeżenia na temat tych wymagań:

1. **Oryginalność rozwiązania problemu naukowego:** Podstawową cechą rozprawy doktorskiej jest wniesienie nowego wkładu do istniejącej wiedzy w danej dziedzinie. Kandydat/-ka powinien/na zidentyfikować konkretny problem naukowy, który jeszcze nie został rozwiązany lub wymaga dalszego zgłębienia. Oryginalność polega na tym, że prezentuje się nowatorski sposób analizy, syntezę informacji lub wnioski, które przyczyniają się do rozszerzenia wiedzy w danej dziedzinie.
2. **Ogólna wiedza teoretyczna kandydata/-tki:** Praca doktorska powinna wykazywać, że kandydat/-ka posiada dogłębną wiedzę w swojej dziedzinie. To oznacza nie tylko zrozumienie głównych teorii i koncepcji, ale także umiejętność umieszczenia swojego badania w szerszym kontekście naukowym. Kandydat/-ka powinien/powinna wskazać, w jaki sposób jej/jego praca nawiązuje do istniejących teorii i jakie są implikacje jej/jego wyników dla omawianej dziedziny.
3. **Umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej:** Proces tworzenia rozprawy doktorskiej wymaga samodzielności i zdolności do prowadzenia skomplikowanych badań. Kandydat/-ka powinien/powinna wykazać umiejętność projektowania eksperymentów lub analizy danych, a także interpretacji wyników. To nie tylko testuje wiedzę, ale także zdolność do podejmowania decyzji na podstawie złożonych informacji.
4. **Kreatywność i innowacyjność:** Rozprawa doktorska nie polega tylko na powtórzeniu istniejących badań. Kandydat/-ka powinien/powinna wykazać kreatywność w podejściu do problemu, poszukiwaniu nowych koncepcji, metod badawczych lub podejść. Innowacyjność jest kluczowa dla przyczynienia się do postępu w danej dziedzinie.

Wnikliwie przygotowana rozprawa doktorska powinna przede wszystkim zapewnić płynne wstępne wprowadzenie do tematu badawczego, nakreślić wyznaczone cele, omówić przyjętą metodologię realizacji tychże celów, przedstawić osiągnięte rezultaty, a także przeprowadzić szczegółową analizę otrzymanych wyników. Zakończenie powinno obejmować syntetyczne odniesienie do zakreślonych celów badawczych oraz wytyczonych hipotez, które były sformułowane w sekcji wstępu.

Przechodząc do omówienia otrzymanej do recenzji pracy zatytułowanej *Obrazowanie w podczerwieni w klasyfikacji histopatologicznej i orientacji makromolekuł, wsparte zoptymalizowanymi metodami wstępnego przetwarzania danych* w kontekście przedstawionych powyżej wymagań prezentuję moje spostrzeżenia i uwagi.

Część teoretyczna rozprawy doktorskiej podejmuje próbę nakreślenia celów tejże pracy. W bardzo oszczędny sposób przedstawione są podstawy spektroskopii w podczerwieni w szczególności metody otrzymywania widm. Wg Doktorantki „*typowym rodzajem źródeł wykorzystywanych w spektrometrach FT-IR są źródła termiczne. Najczęściej stosowane są globar’y (SiC) oraz pręty Nernsta (ZrO₂+Y₂O₃).... emisja globar’a pokrywa obszar od bliskiej, przez średnią, po daleką podczerwień*”.

Zakres emisji lamp SiC jest znacznie ograniczony i nie da się stosować go niewymiennie w obszarach od dalekiej do bliskiej podczerwieni.

Dlaczego w tym paragrafie nie zostało wymienione promieniowanie synchrotronowe jako jedno ze źródeł promieniowania podczerwonego? Wszakże Doktorantka jest zatrudniona na linii badawczej CIRI w polskim centrum synchrotronowym SOLARIS w Krakowie.

Z wielkim niepokojem przeczytałam podrozdział 1.4 dotyczący aspektów otrzymywania obrazu:

Strona 25

Punktowe mapowanie staje się jednak coraz mniej popularne ze względu na dostępność detektorów macierzowych, których zastosowanie znacznie skraca skalę czasową pomiarów i pozwala osiągnąć piksele o rozmiarach rzędu μm , bez strat związanych z jakością sygnału. Najczęściej wykorzystywane są detektory ogniskowej matrycy (FPA, ang. Focal Plane Array), ... Po zebraniu zestawu danych, stolik przemieszcza się do innej lokalizacji. Niezależne zestawy (kafelki) zostają następnie łączone w jeden plik pomiarowy (ang. stitching), a opisana procedura pomiarowa jest powszechnie nazywana obrazowaniem. Finalny zestaw danych ma trzy wymiary, gdzie dwa pierwsze (X, Y) dają informację przestrzenną, a trzeci zawiera kontrast chemiczny.

Pozwolę sobie nie zgodzić się ze stwierdzeniem, że detektory macierzowe, mające piksele rzędu μm dostarczają widma o dobrej jakości SNR.

Nie jest też prawdą, że finalny zestaw danych po eksperymencie z użyciem detektora FPA **ma tylko trzy wymiary**.

Ten podrozdział wydaje się być dość istotny z punktu widzenia tematyki rozprawy doktorskiej, której celem jest „opracowanie i optymalizacja metodyki dla **obrazowania spektroskopowego w podczerwieni (IR)**”.

Jak można optymalizować metodykę dla procesu, którego do końca się nie rozumie?

Metody wstępnego przetwarzania danych (podrozdział 2 części teoretycznej) skupiają się głównie na odsumowaniu sygnału widmowego. Kwestia normalizacji została jedynie wspomniana w jednym zdaniu. A przecież jest to też jeden z tematów będący źródłem dyskusji wielu czołowych specjalistów spektroskopii. W dołączonych do rozprawy publikacjach, Autorzy twierdzą, że normalizacja była przeprowadzona do Amidu I – zastanawia mnie, dlaczego założono, że linia ta jest stała dla wszystkich analizowanych tkanek?

Nie do końca jestem przekonana o celowości rozpatrywania w tej rozprawie orientacji molekuł (podrozdział 3 części teoretycznej), nie udało mi się znaleźć żadnych argumentów podających celowość wykonanych eksperymentów:

„Włączenie ponadto kontroli nad polaryzacją padającego światła podczerwonego oraz odpowiedniej teorii pozwala uzyskać nawet dogłębsze informacje na temat orientacji makromolekuł, które są szczególnie istotne np. z punktu widzenia biofizyki.”

Część teoretyczna kończy się paragrafem 4. Klasyfikacja - las losowy. Nie rozumiem, dlaczego działanie lasu losowego nie zostało wytłumaczone na podstawie realnych cech klasyfikujących, które zostały użyte w procesie klasyfikacji tkanek nowotworowych trzustki.

Doktorantka wybrała 8 spośród swoich prac jako bazę swojej rozprawy doktorskiej. Wszystkie prace cyklu są wieloautorskie, co z pewnością wynika ze specyfiki prowadzonych przez Panią Paulinę badań, czyli konieczności nawiązania współpracy z naukowcami z innych dziedzin np. biologii lub medycyny.

Z oświadczeń Doktorantki oraz pozostałych współautorów dostarczonych w pliku „Oświadczenia współautorów.pdf” wynika, że jej wkład w powstanie tych prac wahał się pomiędzy 20 a 70%.

Formalnie o swoim wkładzie w powstanie wybranych prac Autorka wspomina w trzech miejscach:

1. Wspomniany wyżej dokument: Oświadczenia współautorów.pdf
2. Określenie wkładu w publikacje pojawiające się w podrozdziałach: Przedruki publikacji (odpowiednio strony: 46, 83, 98, 115)
3. W sekcjach „Author contributions” dla niektórych włączonych do rozprawy doktorskiej prac [A, B, G]

Chciałbym zauważyć, że wykaz publikacji przedstawiony przez Autorkę obejmuje zestawienie prac od A do H. Jednakże, w przypadku oświadczeń współautorów, numeracja ta różni się i opiera się na oznaczeniach od 1 do 8. Jedynie dla Pani Pauliny oraz dr hab. T. Wróbla numery te są zgodne, natomiast dla pozostałych współautorów numeracja rozbiega się.

Szkoda, że Doktorantka nie zadbała o kwestię jednolitego sposobu wymieniania publikacji, co może być uznane za aspekt prozaiczny, lecz jednak istotny dla zapewnienia spójności i klarowności w przekazie informacji. Nie rozumiem też dlaczego oświadczenia współautorów są w języku angielskim.

Bazując na oświadczeniu Doktorantki (strona 115 rozprawy i oświadczenie współautorów) wynika, że jedynie w przypadku pracy [H] jej udział był związany ze sformułowaniem celu badawczego. W pozostałych pracach Doktorantka skupiała się głównie na udziale w eksperymentach i analizie danych.

Sytuacja wygląda inaczej, jeśli spojrzeć na przedruki prac. Okazuje się, że Doktorantka brała udział w sformułowaniu celów badawczych również w innych pracach (tam gdzie informacja o „Author contributions” jest dostępna). Z czego wynikają te nieścisłości?

Dodatkowo chciałabym zwrócić uwagę na fakt, że we wszystkich załączonych do rozprawy prac autorem do korespondencji jest Promotor Doktorantki. Dlaczego w przypadku pracy [H] ta funkcja nie mogła przypaść Doktorantce, skoro jej udział jest szacowany na 70%?

Cele pracy (streszczenie strona 7):

- opracowanie i optymalizacja metodyki dla obrazowania spektroskopowego w podczerwieni (IR), **pod kątem osiągnięcia maksymalnej jakości danych oraz tworzenia modeli klasyfikacji histopatologicznej raka trzustki.**

- rozwinięcie technik wyznaczania orientacji makromolekuł, co związane jest z hipotezą mówiącą o dostarczaniu przez nie dodatkowych informacji o chorobie oraz usprawnianiu modeli klasyfikacyjnych.

Realizacja opisanych powyżej aspektów jest wsparta przez dogłębnie zoptymalizowane procedury wstępnego przetwarzania danych, ze skupieniem na metodach odszumiania oraz korekty linii bazowej.

Cztery obszary tematyczne złożone ze zbiorów publikacji:

- pierwszy związany jest z szeroko pojętymi **optymalizacjami technik odszumiania widm** oraz obrazów spektroskopowych, pod kątem podniesienia jakości sygnału oraz poprawy czułości klasyfikacji histopatologicznej [A,B,C,D].

- kolejnym obszarem jest sama klasyfikacja histopatologiczna oraz jej skuteczność w diagnostyce nowotworów trzustki w oparciu o obrazowanie IR [G].

- trzeci obszar badań to wyznaczanie orientacji makromolekuł, w płaszczyźnie (2D) oraz przestrzeni (3D), wykorzystujące spolaryzowaną spektroskopię w podczerwieni, a docelowym zastosowaniem obu metod jest określanie orientacji włókien kolagenowych [E,F].

- finalnym tematem jest implementacja metody korekty linii bazowej typu EMSC (ang. Extended Multiplicative Signal Correction) skierowanej do próbek o cylindrycznym kształcie (np. włókien), wywołujących silne rozpraszanie typu Mie [H].

Czy cele pracy zostały spełnione?

Po wnikliwym, kilkukrotnym przeczytaniu rozprawy doktorskiej Pani Koziół stwierdzam, że nie do końca jestem przekonana, że rzeczywiście cele tej pracy zostały osiągnięte i że można je zaliczyć jako oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

Pierwszy i największy zbiór publikacji dotyczy wpływu **odszumiania na dane spektroskopowe oraz na skuteczność klasyfikacji histopatologicznej**. Prace, na które powołuje się Doktorantka, są pracami które wcześniej były wykorzystane w innym postępowaniu awansowym (postępowaniu habilitacyjnym).

(Nie wiadomo dlaczego prace są przedstawione w kolejności A,D,B,C).

Wydaje mi się, że co do zasady publikacje składające się na cykl nie powinny być wykorzystane do celów innego postępowania o nadanie stopnia doktora lub doktora habilitowanego.

W jaki sposób można ocenić indywidualny wkład autorów na oryginalność rozwiązania problemu naukowego?

Pomijając ten fakt trudnego do rozdzielania wkładu współautorów, chciałabym zwrócić uwagę na inne zagadnienia, które zostały pominięte w tych czterech pracach.

Comparison of spectral and spatial denoising techniques in the context of High Definition FT-IR imaging hyperspectral data [A]

W pracy opisano porównanie technik odszumiania spektralnego i przestrzennego w kontekście danych hiperspektralnych obrazowania FT-IR High Definition. Autorzy stworzyli symulowany zestaw danych, wykorzystując eksperymentalne informacje strukturalne i spektralne oraz eksperymentalne poziomy szumu jako dane wejściowe do symulacji. Następnie porównali wydajność różnych technik odszumiania w tym symulowanym zestawie danych, biorąc pod uwagę wzmocnienie SNR, zniekształcenie sygnału, wrażliwość na parametry strojenia i wpływ określonej struktury danych FT-IR z różnymi rozmiarami pikseli 1,1 i 5,5 μm reprezentującymi opcje obrazowania HD i standardowej rozdzielczości. Najlepsze techniki zostały później zastosowane do danych eksperymentalnych w celu walidacji.

“The spatial distribution of these classes were used for initial concentration profiles of three spectral profiles (resembling proteins, lipids and DNA/RNA profiles), each containing 16 bands (1030, 1080, 1172, 1242, 1280, 1342, 1400, 1462, 1550, 1650, 1754, 2352, 2850, 2920, 2962, 3300 cm^{-1})”

Autorzy nie wyjaśniają, dlaczego używali tych konkretnych 16 pasm. Wspominają jednak, że początkowe profile stężeń trzech profili widmowych (przypominających białka, lipidy i profile DNA/RNA) zostały wykorzystane do przestrzennego rozmieszczenia tych klas. Profile te zawierały po 16 pasm każdy o długości fal od 1030 do 3300 cm^{-1} .

“Overall, we show that any kind of denoising done on even a small number of scans for imaging will give a better outcome than extended acquisition times.”

Redukcja szumów może pomóc poprawić jakość danych, ale sama w sobie nie jest w stanie całkowicie zrekompensować braku informacji spowodowanego niewielką liczbą skanów. Zdarza się, że widmo IR może zawierać znaczne błędy i niedokładności, które nie zostaną całkowicie usunięte poprzez jedynie odszumianie sygnału.

W skrócie, choć odszumianie może poprawić jakość danych, nie zastąpi ono konieczności wykonania odpowiedniej liczby skanów w celu uzyskania rzetelnego i wiarygodnego widma IR.

Noise-free simulation of an FT-IR imaging hyperspectral dataset of pancreatic biopsy core bound by experiment [D]

W artykule opisano symulację bezszumowego zestawu danych obrazowania hiperspektralnego FT-IR tkanki trzustki na podstawie danych eksperymentalnych. Celem symulacji było przetestowanie wydajności różnych algorytmów analizy i przetwarzania danych. Dodano również zestaw eksperymentalnych poziomów szumu, który wykorzystano do porównania podejść odszumiających, co dzięki bezszumowemu sygnałowi referencyjnemu umożliwia rzeczywistą obserwację zniekształceń sygnału spowodowanych różnymi podejściami. **W artykule nie przedstawiono żadnych konkretnych wyników ani ustaleń poza opisem procesu symulacji. Podano jedynie tabelkę z pozycjami linii wziętych do tworzenia profilu.**

Influence of denoising on classification results in the context of hyperspectral data: High Definition FT-IR imaging [B]

Artykuł bada wpływ metod odszumiania, takich jak PCA i MNF, na dokładność klasyfikacji danych obrazowania FT-IR.

Autorzy wykorzystują model histopatologiczny do obserwacji wpływu schematów odszumiania na klasyfikację na poziomie pikseli i przewidywanie nowych klas próbek biologicznych. Stwierdzono, że metody odszumiania, w szczególności PCA i MNF, znacznie poprawiają wyniki klasyfikacji i przewyższają inne metody. W pracy nie omówiono, jakie linie były wykorzystane do budowy modelu klasyfikacji histopatologicznej.

Wg Doktorantki: „Metody MNF oraz PCA poprawiły skuteczność klasyfikacji na poziomie piksela nawet o 43-44%”.

Wydaje mi się, że walidacja przeprowadzona dla indywidualnych pikseli jest raczej błędna, ponieważ te piksele nie są odosobnionymi obiektami, ale częścią obrazu i ten fakt powinien być wzięty pod uwagę na etapie sprawdzania modelu.

Denoising influence on discrete frequency classification results for quantum cascade laser based infrared microscopy [C]

Badanie koncentruje się na wykorzystaniu wielowymiarowych metod odszumiania, takich jak analiza głównych składowych (PCA) i minimalna frakcja szumu (MNF) w celu usunięcia szumu z danych. Wyniki pokazują, że liczba eksperymentalnych zmiennych spektralnych jest najważniejszym czynnikiem dokładności klasyfikacji. W artykule podkreślono również, że MNF znacznie poprawia wyniki klasyfikacji, gdy bierze się pod uwagę więcej niż 20 zmiennych. Badania te przyczyniają się do zrozumienia technik odszumiania w mikroskopii QCL IR i ich wpływu na dokładność klasyfikacji.

Brakuje mi w cyklu tych prac podkreślenia, w jaki sposób różne czynniki eksperymentalne wpływają na widmo uzyskane w czasie eksperymentu i jak to przekłada się na zrozumienie składu biochemicznego próbki.

Klasyfikacja histopatologiczna tkanek trzustki

Nadrzędnym etapem w procesie klasyfikacji nowotworów jest przeprowadzenie analizy histopatologicznej biopsji pozyskanej od pacjenta, wykonywanej przez co najmniej dwóch doświadczonych histopatologów. Nie ulega wątpliwości, że taka ocena obarczona jest wpływem czynnika ludzkiego. Złożoność tkanek nowotworowych w porównaniu do ograniczonej liczby markerów stosowanych w analizie histopatologicznej wprowadza utrudnienia w procesie diagnozowania. Wydaje się, że spektroskopia podczerwieni FTIR może zniwelować te ograniczenia, bowiem opiera się na charakterystyce biochemicznej badanej tkanki, umożliwiając precyzyjne jej rozpoznawanie.

W pracy [G] badanie miało na celu zbudowanie solidnego modelu uczenia maszynowego na poziomie pikseli do wykrywania raka trzustki za pomocą obrazowania w podczerwieni (IR).

Model został oparty na danych z ponad 600 biopsji od 250 pacjentów, które zostały zobrazowane z rozdzielczością przestrzenną ograniczoną dyfrakcją IR.

Przeprowadzono badania przy użyciu dwóch różnych konfiguracji optycznych, a mianowicie Standardowej oraz Wysokiej Rozdzielczości (High Definition), celem pomiaru charakterystyk tkanek. Zbudowany model osiągnął imponujące wskaźniki AUC na poziomie pikseli (reprezentujących obszary tkanki) przekraczające 0,95, co świadczy o jego znakomitej zdolności do skutecznej klasyfikacji.

W ogólnym rozrachunku, model klasyfikacyjny histopatologiczny opierał się na wyjątkowo obszernym zbiorze obrazów podczerwonego FTIR, ekstrahując informacje biochemiczne z widm i wykorzystując je do precyzyjnego wykrywania przypadków raka trzustki.

W kontekście tabeli S2, warto zauważyć, że Doktorantka przedstawia lokalizacje linii absorpcyjnych, które były istotne przy budowie modelu klasyfikacyjnego. Niemniej jednak, nie dokonuje szczegółowego przypisania tych linii do konkretnych drgań czy rotacji atomów lub grup funkcyjnych w cząsteczce. Choć istnieje powszechne przekonanie, że takie przypisanie pomaga w identyfikacji chemicznego składu próbki, to w pracy tej fakt ten nie został w pełni ukierunkowany. W badaniu tkanki nowotworowej, widma IR mogą ujawnić zmiany w stężeniu białek, lipidów i innych związków, które są charakterystyczne dla komórek nowotworowych. Porównując widma IR próbek zdrowych z widmami próbek chorobowych, można próbować wyodrębnić charakterystyczne różnice widmowe, które pomagają w diagnozowaniu i klasyfikowaniu zmian patologicznych.

Wydaje się, że przedstawiona w tej pracy klasyfikacja opiera się na wybieraniu losowych liczb z zakresu 3100-940. Zastanawiające jest w jaki sposób, można by było przekonać środowisko medyczne o wartości tego typów eksperymentów jako potencjalnej metody wspomagającej proces oceny histopatologicznej.

Analiza tkanek przy użyciu spektroskopii IR jest popularną techniką w biochemii i naukach medycznych. Przy analizie tkanek, które zostały zatopione w parafinie (technika znana jako woskowanie), a następnie odparafinowane przed analizą, istnieją pewne kwestie, które mogą wpłynąć na jakość otrzymanych widm. Ogólnie wiadomo jest, że woskowanie i odparafinowanie tkanek może potencjalnie wpłynąć na skład chemiczny próbek, a tym samym na wyniki analizy IR.

W przedłożonej do recenzji pracy nie ma wzmianki, świadczącej o tym, że ten problem był w jakikolwiek sposób dyskutowany. A przecież przygotowanie próbek jest kluczowym etapem w analizie tkanek biologicznych. Dbłość o odpowiednie procedury przygotowawcze pomaga uzyskać wiarygodne, powtarzalne i dokładne wyniki analizy. Jeśli chcemy stworzyć modele ułatwiające klasyfikację histopatologiczną raka trzustki, to wydaje mi się, że dobrze by było skupić się również na optymalizacji protokołu przygotowania próbek. Po przeczytaniu serii publikacji, odnoszę wrażenie, że istotne było jedynie skupienie się na odsumowaniu zebranych sygnałów.

Wyznaczanie orientacji makromolekuł w oparciu o spolaryzowaną spektroskopię IR

Streszczenie Doktorantki:

*Praca na modelami histopatologicznymi umożliwiającymi detekcję nowotworów trzustki ujawniła pewną cechę tkanki nowotworowej – zaobserwowano, że **mikrosrodowisko raka trzustki jest bogate w otaczającą go tkankę włóknistą zbudowaną z kolagenu.***

W związku z tym wysnutych zostało szereg teorii związanych z charakterystyką tkanki włóknistej. Podejrzewa się, że może ona determinować wiele aspektów związanych z chorobą, między innymi może zostać wykorzystana jako czynnik prognostyczny, może determinować skuteczność penetracji leków (chemioterapii) czy może być wykorzystana jako czynnik pozwalający określić zaawansowanie choroby.

Wykorzystanie polaryzacji przelamuje tutaj pewną barierę postawioną przez brak informacji o organizacji próbki.

Ale jakie konkretnie informacje można uzyskać z wyznaczania orientacji molekuł kolagenu?

Kolagen jest jednym z głównych składników białkowych tkanki łącznej i jest powszechnie obecny w wielu różnych tkankach organizmu. Jednakże nie jest on obecny we wszystkich tkankach w takim samym stopniu.

Informacja, że kolagen może być obecny w tkance nowotworowej trzustki jest ogólnie znana, ale jego występowanie może różnić się w zależności od typu nowotworu i stadiów choroby o czym Doktorantka nie wspomina.

W tkankach nowotworowych można zaobserwować zmiany w składzie macierzy pozakomórkowej, w tym kolagenu. Nowotwory często prowadzą do reorganizacji otaczającej je tkanki, włącznie z macierzą pozakomórkową, w celu dostarczenia sobie wsparcia strukturalnego oraz zapewnienia warunków sprzyjających wzrostowi i przerzutom.

W raku trzustki, zwłaszcza w zaawansowanych stadiach, może dochodzić do gromadzenia się zmienionej macierzy pozakomórkowej, co często obejmuje kolagen. Jednakże proces ten jest złożony i zależy od rodzaju nowotworu, jego mikro-środowiska i stopnia zaawansowania. Nie jest to jednoznaczna cecha wszystkich nowotworów trzustki.

W publikacji dołączonej do tej rozprawy analiza orientacji molekuł została przedstawiona jedynie dla trzech przypadków (malignant ductal adenocarcinoma). Na tej podstawie trudno jest sądzić, że obecność molekuł kolagenu o określonej orientacji może potencjalnie mieć znaczenie w zrozumieniu patogenezy i leczenia raka trzustki.

Jeśli chodzi o pracę [F] wydaje mi się, że było to przedwczesne włączenie jej do cyklu obejmującego zagadnienia związane z tematyką rozprawy doktorskiej.

Korekta rozpraszania typu Mie dla próbek o cylindrycznym kształcie

Streszczenie Doktorantki:

„Korekta rozpraszania Mie przez obiekty sferyczne jest szeroko przestudiowana i posiada w literaturze wiele wariantów algorytmów umożliwiających korektę dla takich próbek jak np. komórki. Poza teorią nie było jednak dostępnej implementacji korekty rozpraszania dla próbek o cylindrycznym kształcie.”

Tymczasem w pracy:

Extended Multiplicative Signal Correction for Infrared Microspectroscopy of Heterogeneous Samples with Cylindrical Domains Ilia L Rasskazov, Rajveer Singh, P Scott Carney, Rohit Bhargava *Applied Spectroscopy* 2019, Vol. **73**(8) 859–869

ta korekta została dokładnie opisana na przykładzie dwóch próbek posiadających strukturę tkanki włóknistej.

Reasumując moje uwagi i spostrzeżenia chciałabym zwrócić uwagę na jeszcze jeden bardzo istotny aspekt.

Przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska nie zawiera żadnego podsumowania. Podsumowanie zawsze odgrywa kluczową rolę, ponieważ pełni funkcję podkreślenia, systematyzacji i wyciągnięcia wniosków z całości pracy.

Podsumowanie umożliwia jeszcze raz przedstawienie najważniejszych elementów pracy, w tym celu badawczego, głównych tez, metodologii i wyników.

Podsumowanie to miejsce, gdzie można przedstawić główne wnioski wyciągnięte z przeprowadzonych badań i analiz. Doktorantka mogłaby podkreślić, co udało się osiągnąć w ramach pracy i skonfrontować z początkowymi celami.

W podsumowaniu można by było wskazać dalsze kierunki prowadzonych badań.

Przedstawiona do recenzji praca nie była dla mnie łatwą lekturą. Ważne kwestie dotyczące omawianej tematyki zostały pominięte.

W pracy tej można zauważyć pewne rozwarstwienie treści, w którym przeważająca uwaga poświęcona jest procesom usuwania zakłóceń i szumów z zarejestrowanych sygnałów. Niemniej jednak, w przypadku omawianego problemu (klasyfikacja nowotworów trzustki przy pomocy obrazowania w podczerwieni), zasadne wydaje się poszerzenie spektrum analizy, by uwzględnić nie tylko tę kwestię, lecz także optymalizację samych procedur przygotowania próbek.

W moim odczuciu zdecydowanie lepiej byłoby gdyby Doktorantka napisała monografię zamiast wstępu teoretycznego i krótkich streszczeń przed kolejnymi publikacjami. Napisanie monografii pozwoliłoby uniknąć kwestii wieloautorowości - analizując kolejne wersje oświadczeń współautorów ciężko jest mi stwierdzić, kto tak naprawdę jest architektem koncepcji tej pracy.

Chciałabym jeszcze wypunktować przynajmniej niektóre kolokwializmy i skróty myślowe, których można byłoby uniknąć co niewątpliwie przyczyniłoby się do poprawy czytelności pracy.

- *W części teoretycznej pracy **pokryte** zostały podstawy fizyczne zagadnień związanych z badaniami opisanymi w publikacjach wchodzących w skład rozprawy.*
- *Włókno polimeru o silnych właściwościach rozpraszających zostało wykorzystane do **walidacji** nowego algorytmu, który okazał się skuteczniejszy od metody referencyjnej.*
- ***Warunkiem przejścia energii potencjalnej z niższego na wyższy poziom, jest absorpcja kwantu promieniowania o energii dokładnie dopasowanej do różnicy poziomów energetycznych.** (str 19)*
- *Mierzona jest natomiast intensywność promieniowania docierającego do detektora po przejściu przez próbkę oraz bez jej obecności. (str 21)*
- *Intensywność jest wielkością proporcjonalną do mocy, tak że po wyznaczeniu stosunku tych wielkości (według równania 9) otrzymywana jest transmitancja, a co za tym idzie, wyznaczana jest absorbancja.*

- Warto nadmienić, że w praktyce wykonywane są pomiary **ekstynkcji** promieniowania, a dopiero po zastosowaniu odpowiednich metod wstępnego przetwarzania danych (opisanych w dalszych rozdziałach) otrzymywana jest absorbancja
- Po odbiciu od luster, **ramiona podzielonej wiązki** wracają z powrotem do rozdzielacza, gdzie ulegają interferencji
- Po zebraniu widma (lub widm), stolik przesuwa się do kolejnej pozycji, często tworząc w ten sposób mapę punktów/widm.
- W przypadku detektorów punktowych zbierane jest pojedyncze widmo, a pokrywanie większego obszaru pomiarowego nazywane jest mapowaniem.
- Promieniowanie podczerwone padające na próbkę, w przypadku spektroskopii w podczerwieni, może przyjmować różne stany polaryzacji światła.
- Próbką umieszczona jest na zmotoryzowanym stoliku, dlatego po zebraniu danych dla jednego kafelka pomiarowego, odpowiadającego rozmiarowi matrycy detektora, jest systematycznie przesuwana, umożliwiając tym samym pokrycie dużych obszarów badawczych.
- Taka demodulacja sygnału, w funkcji długości fali emitowanej przez źródło, umożliwia zebranie widma absorpcyjnego, a zastosowanie zmotoryzowanego stolika pozwala na obrazowanie dowolnych częstości widmowych. (opis techniki O-PTIR)
- Otrzymany sygnał przedstawia kontrast chemiczny równoważny z widmami IR absorbancji.
- Chemometria oraz uczenie maszynowe zyskały w ostatnich latach ogromną popularność wśród spektroskopistów, ze względu na dużą ilość informacji zawartych w widmach IR, które mogą następnie zostać wykorzystane do trenowania modeli regresji wielowymiarowej lub klasyfikacyjnych. (str. 42)
- Las Losowy w swoim działaniu jest oparty o drzewa decyzyjne i polega na wykorzystaniu wielu słabych klasyfikatorów (drzew) w celu stworzenia modelu odpornego na przetrenowanie. Może być wykorzystywany do zagadnień związanych z regresją, ale tutaj uwaga skupia się na klasyfikacji. (str 45)
- Pierwotnie zastosowana została procedura pomiarowa zakładająca wielokrotne skanowanie w celu osiągnięcia satysfakcjonującego poziomu SNR.
- **Pomiar jednego kafelka**, uwzględniający 32 skany, trwał około 52 s, co przy dodatkowych ograniczeniach związanych z pracą detektora (około 3,5 h bez uzupełniania ciekłego azotu – dlaczego tak krótki czas pracy detektora?) skutkowało czasem trwania pomiarów jednej TMA rzędu 5,6 tygodnia dla obiektywu 15x, oraz 8,5 miesiąca dla 36x.
- Bezpośrednią konsekwencją tej obserwacji było gruntowne zoptymalizowanie praktyk związanych ze zbieraniem danych, zaczynając od zastosowania metod odszumiania w celu poprawy jakości sygnału, a tym samym skrócenia czasu skanowania. **Po wspomnianej redukcji czasu skanowania dominującym blokiem stała się Transformata Fouriera, która z tego powodu została przeniesiona na zewnętrzny komputer.**
- Zastosowanie dodatkowo nowych skryptów pomiarowych (pokonujących ograniczenia pamięciowe oprogramowania) oraz regularna konserwacja detektora (odpompowanie dewara - takie odpompowanie zwykle trwa kilkanaście godzin), umożliwiły pomiary 24 godziny na dobę z prędkością około 12,5 s na kafelek.

Ponadto:

- Na stronie 22 – bardzo ogólnikowo potraktowana została budowa spektrometru
- Na stronie 23 – bardzo lakonicznie wytłumaczony jest sposób rejestracji widm
- Na stronie 24 rys 5 czy na pewno taki układ jest obecny w systemie, z którego korzystała Doktorantka?

Podsumowując powyższe rozważania, stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska: *Obrazowanie w podczerwieni w klasyfikacji histopatologicznej i orientacji makromolekul, wsparte zoptymalizowanymi metodami wstępnego przetwarzania danych* **nie spełnia** kryteriów stawianych kandydatom w Ustawie - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. z 2020 r. poz. 85 z późn. zm).

Z poważaniem

Agnieszka Banaś

Agnieszka Banaś