

Prof. dr hab. inż. Zbigniew Jaroszewicz
Centralna Izba Pomiarów Telekomunikacyjnych (Z-12)
Instytut Łączności – Państwowy Instytut Badawczy
ul. Szachowa 1, 04-894 Warszawa
e-mail: mmtzjaroszewicz@post.pl

ul. Szachowa 1
04-894 Warszawa
tel.: [+48 22] 512 81 00
fax: [+48 22] 512 86 25
e-mail: info@il-pib.pl
www.il-pib.pl

Warszawa, dnia 25 kwietnia 2023 roku

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej mgr inż. Piotra Stępnia p.t. „Ilościowe obrazowanie fazowe struktur biologicznych z wykorzystaniem mikroskopii holograficznej i tomografii holograficznej z rozszerzonym polem widzenia”

Pan mgr inż. Piotr Stępień w swojej rozprawie doktorskiej noszącej tytuł „Ilościowe obrazowanie fazowe struktur biologicznych z wykorzystaniem mikroskopii holograficznej i tomografii holograficznej z rozszerzonym polem widzenia” przedstawia rozwiązanie dwóch problemów, które towarzyszą staraniom uczynienia z technik cyfrowej mikroskopii holograficznej i tomografii holograficznej wydajnych i skutecznych metod pomiarowych. Pierwszy ze wspomnianych problemów stanowi zszywanie obrazów obiektów fazowych w jedną całość i uzyskanie tym sposobem rozszerzonego pola widzenia. Drugą trudnością, na którą napotyka rozwój cyfrowej mikroskopii holograficznej i tomografii holograficznej jest kwestia dużych rozmiarów zbiorów danych generowanych w trakcie pomiarów wykonywanych za pomocą technik cyfrowej mikroskopii holograficznej i tomografii holograficznej oraz dużej ich ilości.

Rozprawa składa się ze spójnego tematycznie zbioru artykułów poprzedzonego wstępem i przewodnikiem po publikacjach. Cała rozprawa liczy w sumie 184 strony, z czego pierwsze 44 strony zawierają streszczenie, spis treści, glosariusz oraz wspomniane już wstęp i przewodnik po publikacjach oraz bibliografię. Pozostałe 140 stron zajmuje zbiór publikacji stanowiących przedmiot rozprawy. Składa się on z czterech prac opublikowanych w materiałach konferencyjnych, sześciu publikacji w czasopiśmie z listy JCR, tj. z tzw. listy filadelfijskiej oraz jednego artykułu opublikowanego w czasopiśmie nie objętym ww. listą.

Wstęp autor rozpoczyna od przedstawienia swojej dotychczasowej działalności i dorobku naukowego, wykazując swój udział w licznych projektach naukowych, tak krajowych, jak i międzynarodowych. W trakcie pracy nad rozprawą i nad realizacją wspomnianych projektów pan mgr inż. Piotr Stępień współpracował z ośrodkami zarówno krajowymi, jak i zagranicznymi, zdobywając potrzebne doświadczenie i zyskując konieczne kwalifikacje do dalszej pracy naukowej.

ul. Szachowa 1
04-894 Warszawa
tel.: [+48 22] 512 81 00
fax: [+48 22] 512 86 25
e-mail: info@il-pib.pl
www.il-pib.pl

W dalszej kolejności autor przedstawia cel pracy i powody jej podjęcia. Zagadnieniem, którym zamierza się zająć jest akwizycja obrazów mikroobektów fazowych, takich jak pojedyncze komórki, tkanki, czy mikroorganizmy pozyskiwanych za pomocą technik obrazowania fazowego, do których należą mikroskopia holograficzna i tomografia holograficzna. Rozwój metod obrazowania fazowego, zwłaszcza w odniesieniu do obiektów mikroskopowych zależy od pomyślnego rozwiązania dwóch podstawowych problemów. Pierwszy z nich stanowi konieczność pomiarów w dużym polu widzenia przy zachowaniu wysokiej rozdzielczości, co pociąga za sobą konieczność wiarygodnego zszywania wielu obrazów fazowych obejmujących sąsiadujące fragmenty mierzonego obiektu. Drugim problemem są duże rozmiary plików z danymi pomiarowymi oraz ich duża ilość. Stwarza to konieczność opracowania specyficznych metod kompresji hologramów, gdyż algorytmy kompresji zwyczajowo stosowane w przypadku zwykłych obrazów nie znajdują w tym przypadku zastosowania ze względu na utratę wysokich częstotliwości przestrzennych, a zachowanie tychże ma zasadnicze znaczenie dla uzyskania pełnej informacji fazowej mierzonych obiektów.

Kolejny rozdział rozprawy zatytułowany „Przewodnik po publikacjach” autor rozpoczyna od przedstawienia listy publikacji wchodzących w skład rozprawy razem z ich podstawowymi wskaźnikami bibliometrycznymi. Następnie krótko omawia zawartość czterech komunikatów konferencyjnych i siedmiu artykułów, które stanowią przedmiot rozprawy, po czym z uwagi na to, że wspomniane prace mają wielu autorów, opisuje swój wkład w powstanie każdej z nich. W podsumowaniu stwierdza realizację celów stawianych w rozprawie, czyli zaproponowanie i realizację nowej metody poprawnego zszywania obrazów fazowych oraz opracowanie algorytmów redukcji danych pomiarowych obrazów holograficznych. Ostatni, krótki podrozdział poświęcony jest zwięzłemu omówieniu możliwych przyszłych prac mających na celu dalsze usprawnienie metod korekcji wartości odniesienia w mikroskopii i tomografii holograficznej oraz dalszej optymalizacji algorytmów kompresji danych holograficznych.

Bibliografia umieszczona w osobnym rozdziale kończącym wstęp i przewodnik po publikacjach, a poprzedzający zbiór publikacji stanowiących przedmiot rozprawy stanowi reprezentatywny wybór publikacji dotyczących zarówno specyficznych problemów mikroskopii i tomografii holograficznej analizowanych przez autora w rozprawie, jak i również krótki przegląd wcześniejszych dokonań w zakresie obrazowania obiektów fazowych, takich jak metoda kontrastu fazowego, mikroskopia polaryzacyjno-interferencyjna, czy obrazowanie w ciemnym polu. Publikacje zamieszczone w bibliografii są uzupełnieniem odnośników zamieszczonych w każdej z prac autora składających się na rozprawę.

ul. Szachowa 1
04-894 Warszawa
tel.: [+48 22] 512 81 00
fax: [+48 22] 512 86 25
e-mail: info@il-pib.pl
www.il-pib.pl

Przedstawienie pierwszego problemu, tj. wiarygodnego zszywania obrazów fazowych w jeden wspólny, autor rozpoczyna od stwierdzenia braku odpowiednich procedur tego rodzaju w odniesieniu do pomiarów fazowych, a to ze względu na podstawową trudność, jaką jest brak możliwości bezwzględnego ustalenia wspólnej wartości odniesienia dla zszywanych obrazów, co z kolei wynika z tego, że funkcja cosinus opisująca natężenie obrazów fazowych jest okresowa, w związku z czym nie jest możliwe jednoznaczne określenie jej argumentu, czyli fazy, na podstawie wartości tejże. Proponowane podejście polega na częściowym nałożeniu sąsiadujących obrazów, a podstawowym problemem staje się ustalenie fazy odniesienia wspólnej dla zszywanych obrazów. Aby to osiągnąć, należy dokonać redukcji różnic pomiędzy obszarami wspólnymi dla zszywanych obrazów, co opiera się na założeniu, że powinny one mieć takie samo przesunięcie fazowe. Założenie to z kolei daje się utrzymać tylko pod warunkiem usunięcia aberracji pojawiających się w mapach fazowych. Autor w pracach [P1] i [P3] zaproponował skuteczne rozwiązanie problemu ustalenia wspólnej fazy odniesienia poprzez korekcję aberracji systematycznych osiągniętą w wyniku uśrednienia wszystkich obrazów fazowych, a następnie odjęciu go od poszczególnych pomiarów (tzw. AME – averaged multiple exposure). Dalszym krokiem była filtracja wspomnianego obrazu uśrednionego, co pozwoliło na lepsze dopasowanie metody do specyfiki obrazów fazowych (tzw. FAME – filtered averaged multiple exposure). Praca [P6] zawiera dalsze rozwinięcie procedur zszywania obrazów fazowych i dotyczy problemu uzgodnienia wartości odniesienia dla współczynnika załamania w tomografii holograficznej. W pracach [K2], [P1], [P4] i [K5] przedstawiono także zastosowania opracowanej metody zszywania obrazów fazowych w badaniach biomedycznych, takich jak np. badanie suchej masy organelli komórkowych, czy wpływ ekspozycji światła o niskim natężeniu na proces gojenia się ran. Warto zwrócić uwagę, co podkreśla sam autor, na to, że opracowane metody zszywania obrazów mogą znaleźć szersze zastosowanie, niż to ograniczone tematem rozprawy oraz na to, że są one opublikowane i ogólnodostępne: P. Stępień, “QPI-stitching-2D-3D,” Github, 2022, <https://github.com/biopto/QPI-stitching-2D-3D>.

Drugi problem podjęty w rozprawie stanowi opracowanie algorytmów kompresji hologramów w metodzie mikroskopii holograficznej. Plik zawierający obraz pojedynczego hologramu o typowych rozmiarach i głębi, jak podaje autor, może mieć rozmiary ok. 5MB. Akwizycja obrazów pokrywających wiele pól widzenia może zwiększyć tę wartość o 4 rzędy wielkości, a w przypadku tomografii holograficznej o 5 rzędów wielkości [P6]. Wymusza to konieczność kompresji tak dużej liczby tak obszernych plików przy jednoczesnym zachowaniu zawartej w nich informacji. Konwencjonalne metody kompresji obrazów okazują się nieprzydatne ze względu na utratę wysokich częstotliwości przestrzennych i koniecznym staje się opracowanie innej metody. Rozwiązanie zaproponowane przez pana mgr inż. Piotra Stępnia w publikacjach [K4], [P2] za punkt wyjścia bierze fakt, że hologramy w cyfrowej mikroskopii holograficznej mają ściśle określoną przestrzenną częstość nośną, a widmo obiektu na nim zarejestrowanego ma ograniczone widmo. Zgodnie z zamysłem autora pozwala to na wstępną filtrację przed przeprowadzeniem procedury kompresji, a następnie połączenie jej z popularnymi metodami kompresji. Kolejne dwie prace [K6] i [P5] miały za cel opracowanie wersji algorytmu kompresji dla przypadku tomografii holograficznej, gdzie ze względu na odmienny charakter metody przyjęto odmienną metodę postępowania - kryterium oceny jakości kompresji w tym przypadku była nie degradacja obrazu fazowego, lecz degradacja pełnej rekonstrukcji tomograficznej.

Nie mam uwag dotyczących układu pracy, bądź też sposobu potraktowania tematu. Autor w serii artykułów składających się na rozprawę podał rozwiązania obu problemów postawionych jako cel rozprawy, tj. wiarygodnego zszywania obrazów fazowych w mikroskopii holograficznej oraz wydajnej kompresji hologramów w metodzie mikroskopii holograficznej i tomografii holograficznej i w związku z tym należy uznać tezę postawioną w rozprawie za dowiedzioną.

Omówienie przyszłych prac wydało mi się nazbyt lakoniczne i ogólne, ale jest to chyba nieunikniona cena za wybór sposobu przygotowania rozprawy jako spójnego tematycznie zbioru artykułów - w ten sposób autor uniknął powtórzenia podsumowań obecnych w każdym z artykułów składających się na rozprawę. Nie do końca też mogę zgodzić się z opinią zawartą na stronie 16, jakoby wcześniej znane techniki obrazowania fazowego służyły wyłącznie wizualizacji obiektów, na poparcie czego można przytoczyć chociażby książkę „Advanced Light Microscopy” prof. M. Pluty cytowaną przez autora, której trzeci tom nosi tytuł „Measuring Techniques”. Tym niemniej powyższą opinię traktuję raczej jako zabieg retoryczny mający podkreślić zalety metod rozwjanych przez autora, a nie jako stwierdzenie rzeczywistego stanu rzeczy.

Dorobek publikacyjny pana mgr inż. Piotra Stępnia obejmuje trzynaście prac, z czego sześć artykułów zostało opublikowanych w wysoko notowanych czasopismach JCR z tzw. listy filadelfijskiej, jeden artykuł w czasopiśmie nie należącym do ww. listy, pięć komunikatów konferencyjnych zostało opublikowanych w Proceedings of the Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers i jeden w materiałach Optical Society of America Technical Digest.

Komunikaty konferencyjne:

- K1. J. Martinez-Carranza, P. Stępień, T. Kozacki, "Phase retrieval with tunable phase transfer function based on the transport of intensity equation," Proc. SPIE **10330**, Modeling Aspects in Optical Metrology VI, 103300D (26 June 2017); <https://doi.org/10.1117/12.2269593>.
- K2. P. Stępień, T. Bernaś, W. Krauze, H. Sas-Nowosielska, M. Kujawińska, "Multi-modal quantitative analysis of HeLa cells using digital holographic microscopy and confocal laser scanning microscopy," Proc. SPIE **10834**, Speckle 2018: VII International Conference on Speckle Metrology, 108341V (7 September 2018); <https://doi.org/10.1117/12.2319588>
- K3. P. Stępień, M. Kujawińska, "Block-matching-based filtration in holographic tomography reconstruction," Proc. SPIE **11060**, Optical Methods for Inspection, Characterization, and Imaging of Biomaterials IV, 1106018 (21 June 2019); <https://doi.org/10.1117/12.2526003>.
- K4. P. Stępień, R. K. Muhamad, M. Kujawińska, P. Schelkens, "Hologram compression in quantitative phase imaging," Proc. SPIE **11249**, Quantitative Phase Imaging VI, 112491Q (14 February 2020); <https://doi.org/10.1117/12.2546092>.
- K5. M. Baczewska, W. Krauze, A. Kuś, P. Stępień, K. Tokarska, K. Zukowski, E. Malinowska, Z. Brzózka, M. Kujawińska, "On-chip holographic tomography for quantifying refractive index changes of cells' dynamics," Proc. SPIE **11970**, Quantitative Phase Imaging VIII, 1197008 (2 March 2022); <https://doi.org/10.1117/12.2608641>.
- K6. R. K. Muhamad, P. Stępień, D. Blinder, P. Schelkens, and M. Kujawińska, "Holographic data compression for holographic microscopy and tomography in biomedical applications," in Imaging and Applied Optics Congress, OSA Technical Digest (Optica Publishing Group, 2020), paper HTh5D.1.

Artykuły w czasopismach z listy filadelfijskiej:

- P1. P. Stępień, D. Korbuszewski, and M. Kujawińska, "Digital Holographic Microscopy with extended field of view using tool for generic image stitching," ETRI J. **41**, 73-83 (2019); [DOI:10.4218/etrij.2018-0499](https://doi.org/10.4218/etrij.2018-0499).
- P2. P. Stępień, R. K. Muhamad, D. Blinder, P. Schelkens, and M. Kujawińska, "Spatial bandwidth-optimized compression of image plane off-axis holograms with image and video codecs," Opt. Express **28**, 27873-27892 (2020); [DOI:10.1364/OE.398598](https://doi.org/10.1364/OE.398598).
- P3. P. Stępień, W. Krauze, and M. Kujawińska, "Preprocessing methods for quantitative phase image stitching," Biomed. Opt. Express **13**, 1-13 (2022); [DOI:10.1364/boe.439045](https://doi.org/10.1364/boe.439045).
- P4. M. Baczewska, P. Stępień, M. Mazur, W. Krauze, N. Nowak, J. Szymański, and M. Kujawińska, "Method to analyze effects of low-level laser therapy on biological cells with a digital holographic microscope," Appl. Opt. **61**, B297-B306 (2022); [DOI:10.1364/ao.445337](https://doi.org/10.1364/ao.445337).
- P5. R. K. Muhamad, P. Stępień, M. Kujawińska, and P. Schelkens, "Off-axis image plane hologram compression in holographic tomography – metrological assessment," Opt. Express **30**, 4261-4273 (2022); [DOI:10.1364/OE.449932](https://doi.org/10.1364/OE.449932).
- P6. P. Stępień, M. Ziemczonok, M. Kujawińska, M. Baczewska, L. Valenti, A. Cherubini, E. Casirati, and W. Krauze, "Numerical refractive index correction for the stitching procedure in tomographic quantitative phase imaging," Biomed. Opt. Express **13**, 5709-5720 (2022); [DOI:10.1364/boe.466403](https://doi.org/10.1364/boe.466403).

Pozostałe artykuły:

- P7. P. Schelkens, A. Ahar, A. Gilles, R. K. Muhamad, T. J. Naughton, C. Perra, A. Pinheiro, P. Stępień, and M. Kujawińska, "Compression strategies for digital holograms in biomedical and multimedia applications," Light.: Adv. Manufact. **3**, 40 (2022); [DOI:10.37188/lam.2022.040](https://doi.org/10.37188/lam.2022.040).

Baza Web of Knowledge w obecnej chwili wymienia dziewięć publikacji pana mgr inż. Piotra Stępnia, ich liczba cytowań wynosi dziewiętnaście, a zostały one przywołane w osiemnastu pracach. Indeks Hirscha publikacji pana mgr inż. Piotra Stępnia wynosi dwa. Najwyżej cytowana z prac, tj. P. Stępień, D. Korbuszewski, and M. Kujawińska, "Digital Holographic Microscopy with extended field of view using tool for generic image stitching," ETRI J. **41**, 73-83 (2019) zebrała już trzynaście cytowań. Następnie, baza Scopus zawiera dwanaście publikacji autora z dwudziestoma dziewięcioma cytowaniami, które znajdują się w dwudziestu czterech cytujących artykułach i z wartością indeksu Hirscha równą trzy. Wspomniana poprzednio najwyżej cytowana praca jest tu wymieniana piętnaście razy. Z kolei ogólnodostępna baza Scholar Google przytacza czternaście prac z czterdziestoma pięcioma cytowaniami, a przytoczona poprzednio najwyżej cytowana praca ma dziewiętnaście cytowań. Należy w tym miejscu zauważyć, że od publikacji prac pana mgr inż. Piotra Stępnia minęło niewiele czasu i co więcej, miała w tym czasie miejsce epidemia COVID, co niewątpliwie wywarło ujemny wpływ na ilość możliwych cytowań. Ponadto, najwięcej publikacji pana mgr inż. Piotra Stępnia przypada na zeszły rok, a fakt opublikowania w ciągu jednego roku dwóch prac w czasopiśmie Biomedical Optics Express, jednej w Optics Express i jednej w Applied Optics, wszystkich będących flagowymi czasopismami Optica Publishing Group (uprzednio Optical Society of America Publishing) oraz jednej w czasopiśmie Light: Advanced Manufacturing należy uznać za osiągnięcie godne podziwu.

Prace pana mgr inż. Piotra Stępnia stanowią istotny wkład w rozwój ważnych dziedzin współczesnej optyki jakimi są mikroskopia i tomografia holograficzna z rozszerzonym polem widzenia. Z tego też powodu należy się spodziewać, że liczba odniesień do prac autora dysertacji będzie w przyszłości szybko rosła. Ponadto należy dodać, że publikacje pana mgr inż. Piotra Stępnia w większości przypadków ukazały się w renomowanych czasopismach o wysokich wartościach wskaźnika impact factor, co z jednej strony stanowi dodatkowy argument świadczący o ich wysokiej wartości, a z drugiej niewątpliwie przyczyni się do dalszego wzrostu liczby ich cytowań. Niezależnie od czysto akademickiej wartości rozprawy należy podkreślić znaczenie praktyczne osiągniętych wyników, a nawet uznać je za ważniejsze, gdyż odnoszą się do najpoważniejszych problemów związanych z dalszym rozwojem mikroskopii i tomografii holograficznej. Dlatego można zasadnie oczekiwać, że liczba cytowań prac pana mgr inż. Piotra Stępnia w przyszłości będzie szybko rosła, a to ze względu na to, że po pierwsze są one ważne, a po wtóre postrzeganie i wejście do obiegu prac naukowych, a co za tym idzie, ich cytowania wymagają co najmniej kilku lat na to, żeby znaleźć odzwierciedlenie w bazach danych.



Należy też wspomnieć, że pan mgr inż. Piotr Stępień ma już w swoim dorobku bycie promotorem (razem z dr inż. Wojciechem Krauze) pracy inżynierskiej pana K Lubaczewskiego zatytułowanej „Analiza statystyczna wybranych parametrów komórek biologicznych zmierzonych w układzie cyfrowego mikroskopu holograficznego”, co miało miejsce w 2020 roku. Powyższa praca także odnosi się do tematyki poruszanej w omawianej rozprawie.

ul. Szachowa 1
04-894 Warszawa
tel.: [+48 22] 512 81 00
fax: [+48 22] 512 86 25
e-mail: info@il-pib.pl
www.il-pib.pl

W mojej opinii tezy rozprawy zostały pomyślnie i z sukcesem dowiedzione, a uzyskane wyniki mają istotne znaczenie dla dalszego rozwoju mikroskopii holograficznej i tomografii holograficznej z rozszerzonym polem widzenia. Wziąwszy pod uwagę przytoczone powyżej powody uważam, że rozprawa pana mgr inż. Piotra Stępnia zasługuje na wyróżnienie.

W konkluzji stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska p.t. „Ilościowe obrazowanie fazowe struktur biologicznych z wykorzystaniem mikroskopii holograficznej i tomografii holograficznej z rozszerzonym polem widzenia” zawiera rozwiązanie oryginalnego problemu naukowego pana mgr inż. Piotra Stępnia i tym samym spełnia wymogi ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. (Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, Dz. U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.) i na tej podstawie wnoszę o dopuszczenie jej do publicznej obrony oraz o uznanie jej za wyróżniającą.

Zbigniew Jaroszewicz