



Dr hab. Józef Cebulski, prof. UR
Instytut Nauk Przyrodniczych
Kolegium Nauk Przyrodniczych
Uniwersytet Rzeszowski

Rzeszów 2022.11.13

Recenzja pracy doktorskiej Mgr. inż. Konrada Wysogłada

pt. „Implementacja próbnika pozytonowego do badań tkanek biologicznych”.

Rozprawa doktorska napisana w Katedrze Fizyki Materiałowej, pod naukowym kierunkiem dr hab. Bożeny Zgardzińskiej, prof. UMCS.

Nowoczesna medycyna, a szczególnie onkologia, potrzebuje nowych specjalistycznych form diagnostycznych. Oprócz stosowania takich technik jak: rentgenografia (RTG), ultrasonografia (USG), tomografia komputerowa (TK), rezonans magnetyczny (RM), pozytonowa tomografia emisyjna (PET), scyntygrafia (Sc) itp., istnieje potrzeba poszukiwania nowych, spersonalizowanych technik diagnostycznych, zwłaszcza dla zastosowań w nowoczesnej onkologii. Takim uzupełnieniem może w przyszłości zostać technika spektroskopii czasów życia pozytonów PALS (ang. Positron Annihilation Lifetime Spectroscopy).

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr inż. Konrada Wysogłada pod tytułem „Implementacja próbnika pozytonowego do badań tkanek biologicznych” stanowi istotny wkład w dziedzinę inżynierii i charakteryzacji układów biomedycznych, co docelowo przybliży technikę PALS do zastosowań medycznych. Z całości pracy wynika także, że tematyka ta zwłaszcza od strony technicznej – tworzenia oprzyrządowania- niewątpliwie leży w zakresie zainteresowań naukowych Doktoranta. Praca ma charakter konstruktorsko-doświadczalny, w którym oprócz wiedzy fizycznej, trzeba było wykazać się kompetencjami techniczno-elektronicznymi. Przedstawiona praca doktorska składa się z 126 stron podzielonych na 17 części/fragmentów, zawiera 79 rysunków i 11 tabel. Uzyskane wyniki były opublikowane w pięciu pracach o zasięgu międzynarodowym, w jednej z nich Doktorant jest pierwszym autorem. Ponadto, uzyskane rezultaty Autor przedstawiał na czterech konferencjach, w tym na jednej w formie ustnej. Do 55-ej strony praca ma charakter teoretyczny, w tej części rozprawy Autor w sposób dosyć przystępny opisał fizyczne podstawy teoretyczne spektroskopii PALS. Tę część pracy oceniam pozytywnie, choć brakuje mi głębszego przeglądu literatury i napotyka się na nieścisłości językowe (np. str. 18 „... kT to stała Boltzmanna”).



Aktualność badań

Pierwsze zastosowania spektroskopii anihilacji pozytonów PAS (ang. Positron Annihilation Spectroscopy), w naukach o życiu można datować na lata 60-te ubiegłego wieku. Te badania dotyczyły głównie wykorzystania metod pozytonowych do zbierania danych związanych z różnymi biomolekułami i biomateriałami, takich jak ciekłe kryształy, aminokwasy, białka, enzymy, mięśnie (najwcześniejsza z publikacji datowana na 1965, [Cole G.D., Walker W.W. Positron annihilation in liquid crystals. – J. Chem. Phys. 42 (1965) 1692-1694, <https://doi.org/10.1063/1.1696179>]). Uzyskane wyniki i rezultaty ówczesnych osiągnięć można znaleźć w pracy przeglądowej z 1980 roku K.P. Singh (K.P. Singh, Positron annihilation studies in biophysical systems, in: P.C. Jain, R.M. Singru (Eds.), Positron Annihilation, South Asian Publ. Pvt. Ltd.; New Delhi, India, 1980, pp. 145-162).

Kolejne publikacje dotyczące zastosowania metod PAS w naukach o zdrowiu pojawiały się dość sporadycznie, ze względu na ograniczenia techniki i teorii eksperymentów pozytonowych. Tym niemniej, na przełomie lat 1990-2000 dokonano pewnych postępów w tej dziedzinie. Przewagi monoenergetycznych „wolnych” wiązek pozytonów, rozwój metod dekonwulcji widm PALS do postaci umożliwiającej wyznaczenie rzeczywistych rozkładów czasów życia w różnych substancjach, oraz teoretyczne opracowanie i odnalezienie rzeczywistych korelacji czasów życia pozytonu i pozytu Ps (Ps, jest to stan związany pozytonu i elektronu) z wielkością objętości swobodnej (dokonano w licznych pracach A. Dupasquier, Y.C. Jean, S.J. Tao, M. Eldrup, K.O. Jensen, P. Hautajarvi, K. Saarinen, V.P. Shantarovich, G. Dlubek, R. Krause-Rehberg, H.S. Leipner, M.J. Puska, C. Corbel, i innych). Umożliwiło to ilościowy pomiar wolnej objętości i pustek w fazie skondensowanej. Postępy te doprowadziły z kolei do szybkiego rozwoju badań z wykorzystaniem techniki PALS w naukach przyrodniczych. Szczegółowe zastosowania obejmowały głównie badania biologicznych makrocząsteczek (makromolekuł) w tkankach i narządach oraz w naturalnie występujących syntetycznych i zmodyfikowanych makrocząstkach (makromolekułach).

Od początku lat 2000-ch, badania z zakresu zastosowania metod PAS w naukach o życiu prowadzono już w trzech kierunkach: (1) PAS w Biotechnologii – materiały biokompatybilne i systemy dostarczania leków (ang. drug-delivery systems, DDS); (2) PAS w bimolekularnych układach – makromolekularne membrany, (3) PAS w Organach i Narządach – badania tkanek biologicznych i efektów ich alteracji (w tym badania nowotworów). Te ostatnie dotyczyły zwłaszcza badania zdrowych i chorych tkanek oraz narządów, takich jak próbki skóry myszy lub człowieka, wykonanych na Wydziale Chemicznym Uniwersytetu Missouri-Kansas City (UMKC), US w grupie Y.C. Jean’a. Publikację tych autorów (Y.C. Jean, Ying Li, Gaung Liu, Hongmin Chen, Junjie Zhang, Jozeph E. Gadzia) z roku 2006 (cytowaną w pracy doktorskiej



jako poz. 47, patrz: [Y.C. Jean, Ying Li, Gaung Liu, Hongmin Chen, Junjie Zhang, Jozeph E. Gadzia, Applications of slow positrons to cancer research: Search for selectivity of positron annihilation to skin cancer. – Appl. Surf. Sci. 252 (2006) 3166-3171]) można uważać za pionierską w tym zakresie (zastosowanie metod PALS w badaniach onkologicznych). Po raz pierwszy przeprowadzono serię badań na próbkach skóry ludzkiej z rakiem i bez raka wykorzystując technikę PAS moderowanych pozytonów przy rozkładzie widma na trzy wolne składowe. W wyniku tych badań stwierdzono, że próbki skóry z komórkami nowotworowymi wykazują niższe wartości czasu życia τ_3 i natężenia I_3 orto-pozytywnej (o-Ps) składowej niż te bez nowotworu (przy czym zmniejszenie frakcji wolnej objętości (ang. relative fractional free volume) wynosiło 100-300 %). Znaczyło to, że komórki rakowe mają niższą wartość „dołączonej” wolnej objętości niż normalne (co sugeruje że komórki rakowe mają wolniejsze ruchliwości między łańcuchami molekularnymi w tkankach skóry niż normalne komórki). Ważnym postępowaniem w rozwoju tego kierunku (wykorzystania PALS w badaniach onkologicznych) było wdrożenie nowoczesnej aparatury dla detekcji widm PALS biomateriałów – czterokanałowego cyfrowego spektrometru czasów życia anihilujących pozytonów wysokiej rozdzielczości (ang. high-resolution 4-channel digital positron lifetime spectrometer). Dokonano tego w grupie Filipa Tuomisto na Uniwersytecie Helsinky, Finlandia (Department of Engineering Physics, Helsinki University of Technology, Finland; patrz [Petri Sane, Simo Kilpeläinen, Filip Tuomisto, 4-channel digital positron lifetime spectrometer for studying biological samples. – Mater. Sci. Forum 607 (2009) 254-6]). Autorzy przyjęli, że woda jest zwykle obecna w biomateriałach, a co za tym idzie – część o-Ps anihiluje w wodzie z τ_3 zbliżonym do $\sim 1,8$ ns, a część – w próbce z czasem życia zbliżonym do anihilacji o-Ps w samym biomateriale. Przy użyciu mniejszych głowic i digitalizacji procesu pomiarowego okazało się możliwym odnalezienie o jeden składnik więcej w rozkładach rejestrowanych widm PALS – (τ_4 , I_4). Reasumując powyższe technika pomiarów spektroskopowych PALS dla obiektów biologicznych jest rozwijana w kilku ośrodkach na świecie i dobrze, że grupa fizyków z Katedry Fizyki Materiałowej UMCS także włączyła się w tę tematykę badawczą, czego rezultatem jest także ta praca doktorska.

Osiągnięcia uzyskane w pracy doktorskiej

Do głównych osiągnięć naukowych przedstawionych w pracy doktorskiej mgr inż. Konrada Wysogłada można zaliczyć:

1. Rozwiązania techniczne dotyczące modernizacji i implementacji układu pomiarowego do badań obiektów biomedycznych z wykorzystaniem techniki spektroskopii czasów życia anihilujących pozytonów (PALS).



Oto wnioski autora w tej części: „W rozprawie zaprezentowano nowe podejście do badań tkanek biologicznych przy użyciu spektrometrii anihilacyjnych czasów życia pozytonów. Wykonano, począwszy od pomysłu, poprzez projekt układu prototypowego, a skończywszy na działających układach elektrooptycznych, dwie głowice pomiarowe do systemu mPALS. Dzięki użyciu zintegrowanych fotopowielaczy półprzewodnikowych udało się osiągnąć niespotykaną do tej pory maksymalną miniaturyzację układu pomiarowego PALS. Otwiera to nowe możliwości w zastosowaniu urządzeń w miejscach gdzie nie jest możliwe użycie konwencjonalnych głowic pomiarowych. Fotopowielacze półprzewodnikowe są niewrażliwe na zmienne pole magnetyczne, zatem praca w wysokich polach magnetycznych nie dyskwalifikuje ich użycia (np. w okolicach rezonansu magnetycznego).

Użycie super-szybkich i ultra niskoszumnych wzmacniaczy operacyjnych Texas Instruments znacząco polepszyło stosunek sygnału do szumu, pasmo przenoszenia i ustaliło sztywno punkt pracy. Zastosowanie autorskiego rozwiązania wzmacniacza zmiennie-ładunkowego z mikrofalowymi kondensatorami blokującymi spowodowało znaczne skrócenie czasu opadania impulsu spektrometrycznego. Zabieg ten spowodował spadek czasu martwego impulsu.

Wybierając kryształy do zastosowania mPALS brano pod uwagę energetyczną i czasową zdolność rozdzielczą. W urządzeniu użyto scyntylatorów Ce:Br₃, o wymiarach 10x10x10 mm, które posiadają energetyczną zdolność rozdzielczą FWHM_{662 keV} \cong 4,5% z uwagi na maksymalnie dokładne określenie progów dyskryminacji kanału pozytonowego (STOP) i kanału deekscytacyjnego 1274 keV (START). Biorąc pod uwagę wydajność scyntylatorów, zawiera się ona w granicach 9 ± 2 %. Ma to bezpośredni związek z wymiarami kryształu, jednak użycie niewielkich rozmiarów scyntylatora znacząco polepsza energetyczną zdolność rozdzielczą.

Głowice spektrometrów mPALS zostały sparowane z fabrycznymi digitizerami poprzez regulację wzmocnienia i dopasowanie impedancyjne wtórnika napięciowego głowicy i wejścia digitizera, co umożliwiło bezproblemową analizę impulsów spektrometrycznych.

Wykonano badania trzech próbek referencyjnych: krzemu, eicosane i IC3110 (Aerożel) z użyciem spektrometru mPALS i referencyjnego spektrometru PALS dla uzyskania porównania parametrów detekcyjnych w warunkach realnej pracy z próbkami o szerokim rozkładzie rozmiarów wolnych objętości oraz zróżnicowanej licznie składowych w widmie. Sprawdzono wiarygodność i dokładność pomiaru wykonanego spektrometru.”

2. Metodologię próbkowania obiektów biomedycznych (tkanek normalnych i nowotworowych) dla badań z użyciem techniki PALS.

Opis znajduje się w odpowiednich rozdziałach pracy doktorskiej.



3. Metodologię prawidłowego rozkładu widm PALS (alternatywnie, algorytmizacja dekompozycji widm PALS na fizycznie zmysłowe kanały anihilacji), co pozwala na uzyskanie odpowiednich informacji niezbędnych do rozróżnienia tkanek biologicznych zdrowych i nowotworowych (ta część pracy stanowi uzasadnienie możliwości implementacji pozytu jako próbnika do badań tkanek biologicznych).

A oto wnioski autora w tej części:

„Przedstawione wyniki wskazują, że detektor mPALS znajduje zastosowanie do badania próbek, przy czym należy zwrócić uwagę, że składowa p-Ps może w analizie zostać uśredniona wraz ze składową pochodzącą od swobodnej anihilacji e^+ .

Porównanie wyników uzyskanych w nanoskali z użyciem sond antymaterii oraz w mikroskali metodami diagnostyki histopatologicznej (HS i FHS) dowiodło, że spektroskopia czasu życia anihilacji pozytonów jest odpowiednią techniką do badań tkanek nowotworowych. Można to jednak osiągnąć tylko pod warunkiem dokładnego określenia miejsca anihilacji. Wykazano dodatkowo, że w przeciwieństwie do metod histopatologicznych, orto-Ps jest bardzo czułą sondą, pozwalającą na określenie przestrzennego rozmieszczenia nieprawidłowych komórek w tkankach człowieka.

Zależność parametrów PALS wyznaczonych między tkankami H i T na podstawie wyników uzyskanych dla tkanki mięśniowej i mięśniaka macicy, może być prawdziwa nie tylko dla tych tkanek, ale również pochodzących z innych narządów.

Przyjęcie modelu anihilacji Ps w nanopęcherzykach i nanobjętościach znajduje uzasadnienie w budowie materii biologicznej i istotnie poprawia rozróżnialność zdrowych i nowotworowych próbek wątroby. Dla badanych próbek możliwe było określenie poziomu referencyjnego czasu życia o-Ps w nanopęcherzykach zdrowych tkanek wątroby. Dodatkowo wykazano, że technika PALS różnicuje pacjentów poddawanych różnym chemioterapiom.

Wykazanie korelacji zmian zachodzących w strukturze materii biologicznej w skali nanometrów z odpowiedzią sondy Ps wpłynie na postrzeganie mechanizmów prowadzących do powstawania zmian nowotworowych oraz w istotny sposób przyczyni się do poprawy stanu wiedzy na temat interakcji e^+ i Ps z tkankami ludzkimi. Należy jednak mieć na uwadze, że niejednorodność tkanek uzyskanych od pacjenta podczas operacji może wykluczać ten rodzaj próbek, jako nadających się do pomiarów prowadzących do dokładnego wyjaśnienia kwestii kancerogenezy, ze względu na nakładanie się wielu złożonych procesów ”

4. Dokonanie różnicowania w uzyskanych widmach spektroskopowych PALS i mPALS dla tkanek nowotworowych i zdrowych mięśniaka macicy i wątroby.

Opis znajduje się w dwunastym rozdziale pracy doktorskiej str. 98-113.



Komentarz szczegółowy

Rozdział pracy doktorskiej 12.2 prezentuje wyniki pomiarów techniką PALS tkanek zdrowych i nowotworowych pobieranych z jamy brzusznej od czterech pacjentów.

W pierwszej iteracji, przy rozkładzie widma na 3 składowe wolne, okazało się, że trudno wskazać jednoznaczną tendencję zmian w przebiegach parametrów (zwłaszcza w natężeniu o-Ps składowej). Wysznięto zatem przypuszczenie że analiza widm z rozkładem na trzy składowe swobodne nie odzwierciedla w stopniu wystarczającym złożoności ośrodka badanego, gdzie można było spodziewać się nanoobjętości o zróżnicowanych rozmiarach.

Dlatego w drugiej iteracji podjęto próbę analizy widm z rozkładem na trzy składowe przy założeniu dyspersji długożyjącej składowej (korelowanej z rozmiarami wolnych objętości). Jak się okazało, przyjęcie takiego podejścia nie poprawiało w stopniu istotnym uzyskiwanych wyników (dyspersja składowej o-Ps pozostawała na stałym poziomie we wszystkich badanych próbkach). Jednak zauważono że wyznaczony czas życia τ_2 we wszystkich próbkach przyjmował wartość 0,42 ns, co było blisko do odpowiedniego znaczenia średniego czasu życia τ_2 dla wody. Dlatego w trzeciej iteracji analizy widm Doktorant zdecydował się na rozkład widm na 4 składowe przy założeniu stałej wartości składowej $\tau_2=0,42$ ns. Rozkład widma na 4 komponenty poprowadzono przyjmując założenie, że pozyt tworzony jest w dwóch typach objętości: (1) nanopęcherzykach, czyli w ciekłej frakcji próbki (składowa τ_3), oraz (2) nanoobjętościach, czyli frakcji stałej próbki (składowa τ_4). W efekcie udało się wyraźnie uzyskać zróżnicowanie tkanki zdrowej i nowotworowej wszystkich badanych próbek (ten algorytm dekompozycji widm na 4 składowe przy założeniu stałej wielkości $\tau_2 =0,42$ ns, jak na razie nie został opublikowany; do tej pory opublikowano algorytmy przy rozkładzie na trzy wolne składniki).

Zauważmy, że do tego wniosku można było dojść, uwzględniając opracowania innych autorów. W pracach na przełomie lat 2000-ch Gunter Dlubek ze współautorami (patrz:

- [G. Dlubek, S. Eichler, Do MELT or CONTIN Programs Accurately Reveal the o-Ps Lifetime Distribution in Polymers? Analysis of Simulated Lifetime Spectra. – Phys. Stat. Sol. A 168 (1998) 333-350];

- [G. Dlubek, K. Saarinen, H.M. Fretwell, Positron states in polyethylene and polytetrafluoroethylene: A positron lifetime and Doppler-broadening study, Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. B 142 (1998) 139-155];

- [G. Dlubek, R. Buchhold, Ch. Huibner, A. Nakladal, Water in Local Free Volumes of Polyimides: A Positron Lifetime Study. – Macromolecules 32 (1999) 2348-2355])

doszli do wniosku, że w przypadku wielu organicznych ośrodków dwie długożyjące składowe czasów życia mogą być odniesione do o-Ps anihilacji w różnych fazach (częściach) substancji organicznej, przy czym w komputerowych modelach widm PALS wielkość τ_2 zawsze pozostawała na tym samym poziomie 0.4 ns.



Mniej więcej dekadę temu, wypracowując algorytmy analizy widm PALS dla samodzielnych materiałów afilmowych (ang. self-assembled amphiphile materials) zawierających współistniejące fazy cieczy (ang. aqueous) i hydrokbonatów (ang. hydrocarbons), Carlos Pascual-Izzara ze współautorami (grupa PALS z Australii, School of Chemistry, Monash University, Clayton; CSIRO Manufacturing Flagship; patrz [Carlos Pascual-Izarra, Aurelia W. Dong, Steven J. Pas, Anita J. Hill, Ben J. Boyd, Calum J. Drummond, Advanced fitting algorithms for analyzing positron annihilation lifetime spectra. – Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. A 603 (2009) 456-466]) doszli do wniosku, że fizycznie ważnym dla takich substancji jest rozkład widma na 4 komponenty, gdzie składowa τ_2 pozostawała na poziomie ~ 400 ps. W komputerowo modelowanych widmach tych materiałów zawierających 4 komponenty, występują dwa oddzielne składniki o-Ps komponenty odpowiadające za anihilacje w wodzie (trzeci składnik z czasem $\tau_3 \sim 1800$ ps) oraz anihilacje w lipidowym środowisku (czwarty składnik z $\tau_4 \sim 3000$ ps), a pierwszy czas τ_1 jest przyjmowany na poziomie czasu życia p-Ps (~ 125 ps).

Można zatem przypuszczać, że w zastosowaniu do biologicznych obiektów z podobną budową (którymi są zdrowe i nowotworowe tkanki badane w pracy doktorskiej) warto byłoby rozdzielić rozkład widma PALS na 4 oddzielne komponenty zakładając oba czasy życia $\tau_1 \sim 125$ ps oraz $\tau_2 \sim 400$ ps ?

W mojej opinii, niezależnie od podejścia, prace naukową podsumowującą podejście do 4-komponentowego rozkładu widm PALS w samoorganizowanych biosystemach (*Celesta Fong, Aurelia W. Dong, Anita J. Hill, Ben J. Boyd, Calum J. Drummond, Positron annihilation lifetime spectroscopy (PALS): a probe for molecular organization in self-assembled biomimetic systems. – Phys. Chem. Chem. Phys. 17 (2015) 17527-17540; <https://doi.org/10.1039/C5CP01921D>*) można uważać dzisiaj za metodologiczną bazę dla kontynuacji skutecznych pomiarów z wykorzystaniem techniki PALS w zakresie badań nowotworów (cancer research).

Uwagi i wątpliwości

1. Spis literatury do pracy doktorskiej przedstawia stan dotychczasowej wiedzy na temat możliwości rozwoju, oraz zastosowania spektroskopii czasów życia anihilujących pozytonów (PALS) i innych metod diagnostyki do badań materiałów biomedycznych, w tym tkanek nowotworowych. Niestety, niektóre pozycje tego spisu zostały błędnie i zbyt różnorodnie zaindeksowane, co utrudnia ich zidentyfikowanie i odnalezienie, na przykład:

- bez podania autorów i nazw artykułu (poz. 11, 17, 19, 20, 21, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 36, 58, 59, 60, ...),

- bez wskazania rocznika publikacji (poz. 55, 56, 57, ...),

- nieprawidłowe podanie skrótów nazw czasopism (poz. 18, 58, 59, 63, ...),



- ta sama publikacja (poz. 1 oraz 14),
- pomyłki w podpisach Rys. 68 i Rys. 69,
- prezentacja Rys. 44 powinna być w innej części pracy najlepiej w 10.1.1.2.

2. Autor powinien również zwrócić uwagę, na ważne artykuły przeglądowe w tej dyscyplinie takie chociażby jak:

- (Hongmin Chen, J. David Van Horn and Y.C. Jean, Applications of Positron Annihilation Spectroscopy to Life Science. – Defect and Diffusion Forum 331 (2012) 275-293),
oraz zacytować prace naukowe dotyczące algorytmów rozkładu widm PALS na komponenty w tym:

- (J.V. Logan, S.W. McAlpine, P.T. Webster, C.P. Morath, M.P. Short, Positron annihilation lifetime spectroscopy: When is it feasible to decompose the spectrum? – J. Appl. Phys. 130 (2021) 145104-1-9),

-(Celesta Fong, Aurelia W. Dong, Anita J. Hill, Ben J. Boyd, Calum J. Drummond, Positron annihilation lifetime spectroscopy (PALS): a probe for molecular organization in self-assembled biomimetic systems. – Phys. Chem. Chem. Phys. 17 (2015) 17527-17540).

3. Chociaż w metodologii zastosowania pomiarów PALS w pomiarach porównawczych próbek tkanek zdrowych i zmienionych chorobowo, w pracy zrobiono dużo, to niestety sama procedura rozkładu widm pozostawia wątpliwości. Znana jest możliwość występowania artefaktów w rozkładzie widm PALS (na 3 lub 4 komponenty), związanych z ograniczeniem zakresu analizy pierwotnego widma. Do wykonania prawidłowego rozkładu należy dokonać odpowiedniego wyboru zakresu analizy od poziomu tła po lewej stronie widma, jako wybór zerowego kanału, tak jak pokazano na Rys. 60 (tzn. od poziomu mniej-więcej $\frac{3}{4}$ wysokości piku), wyklucza to znaczną część widma z analizy. Być może w tym wypadku nie wpływa to na wyniki rozkładu, ale wymaga dodatkowego wyjaśnienia.

4. Zauważyłem też nieścisłości w prezentacji wyników pomiaru widm PALS dla próbek Si, Eicosane oraz IC3110 Aerożel używając mPALS i spektrometru wzorcowego (widma prezentowane w Tabelach 6, 6.1, 7, 7.1 na stronach 87-90 rozprawy doktorskiej). Po pierwsze, dla porównania widm (z lewej i prawej strony) trzeba było zgromadzić mniej więcej równą ilość zliczeń dla każdego z nich (wtedy jak widać mamy maksimum z lewej strony >1000 counts, a z prawej strony >2500 counts). Dalej, według Autora to samo widmo (co w Tab. 6) rozłożone na dwie komponenty (zaznaczone na rys. żółtą i niebieską linią) pokazano dla trój-komponentowego rozkładu (Tab. 6.1) i cztero-komponentowego rozkładu (Tab. 7). Dlaczego w takim wypadku występuje tak duża różnica w parametrach rozkładów?

5. Nie mogę też zgodzić się z twierdzeniem doktoranta (na stronie 82 pracy doktorskiej), że: „... Zmniejszona objętość kryształu zmniejsza jego wydajność, lecz zwiększa znacząco energetyczną i czasową zdolność rozdzielczą”. Ogólnie przyjęte jest, że przy zmniejszeniu rozmiarów kryształu (scyntylatora) jego czasowa zdolność rozdzielcza zwiększa się, a energetyczna rozdzielczość pogorsza się. Według mnie, w zastosowaniach mPALS czasowa



rozdzielczość nie ma znaczenia (dla sygnału STOP-START), to rozdzielczość energetyczna jest niewątpliwie decydującą (właśnie w zastosowaniach do biomateriałów).

Podsumowując stwierdzam, że pomimo moich uwag i wątpliwości, które mam nadzieję zostaną rozwiane podczas obrony, przedstawiona praca doktorska **Pana mgr inż. Konrada Wysogłada** zawiera oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, tym samym rozprawa **spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim** w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym. Zatem wnoszą o dopuszczenie doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego.