

prof. MVDr. Ivan Misek, CSc.

Sekce embryologie živočichů, buněčné a tkáňové diferenciaci
Ustav živočišné fyziologie a genetiky AV CR, v.v.i.
Veveří 97, 602 00 Brno 2

OPONENTSKÝ POSUDEK

na disertační práci **MVDr. Mgr. Zbyňka Tonara** na téma "KVANTIFIKACE V DESKRIPTIVNÍM A EXPERIMENTÁLNÍM STUDIU FUNKČNÍ MORFOLOGIE CÉVNÍ STĚNY"

Předložená disertační práce je souborem původních vědeckých prací a souhrnů, které jsou zaměřeny na kvantitativní hodnocení struktury cévní stěny. Má celkem číslovaných 156 stran, z čehož 30 stran je věnováno písemnému komentáři vědeckých sdělení přiložených na zbývajících 122 číslovaných stranách a kapitola "Závěr" je umístěna na posledních 4 stranách. Formálně je práce členěna standardním způsobem, přičemž kapitola "Výsledky" je reprezentována 17 publikovanými sděleními vztahujícími se k tématu disertační práce, z nichž 2 práce jsou uvedeny v databázi Web of Science (WoS) a jedna práce je odeslána do redakce impaktovaného časopisu Veterinární medicína (Vet Med-Czech, IF = 0,621). V tomto místě považuji za vhodné upozornit na to, že jsem u doktoranda recentně zaznamenal celkem 7 záznamů ve WoS (z nichž jedna práce má charakter krátkého sdělení a jeden záznam má charakter abstraktu). Obdobný výsledek, tedy 7 záznamů, jsem našel v databázi PubMed. a v databázi Scopus je registrováno na jméno Tonar Z. 6 záznamů.

V úvodu své disertační práce doktorand jasně vymezuje téma, kterým se hodlá zabývat. Prezentuje historický přehled vývoje kvantifikačních metod v mikroskopii s důrazem na oblast stereologie. Jsou zde zmíněny nejčastější postupy matematické morfologie a stereologie včetně matematických způsobů odhadu různých parametrů biologických struktur, jako jsou například délka, povrch, objem či početní hustota různých struktur v tkáňových blocích. Faktograficky je ukázáno, že od počátků moderní stereologie, položených v šedesátých letech minulého století, prodělal tento obor dynamický vývoj především díky rozvoji výpočetní techniky, mikroskopické techniky a zobrazovacích metod. Z pohledu dnešních znalostí a potřeb biomedicínských oborů považuji za klíčový rozvoj 3D a 4D metod modelování biologických struktur, a to nejen v oblasti základního výzkumu, ale i klinických oborů. Qd období "unbiased stereology" již uplynula řada let a díky optimalizačním metodám především v matematických oborech a informatice máme nyní možnost optimalizovat design prováděných studií a zvyšovat jejich efektivitu.

Na základě získání potřebných teoretických znalostí si Dr. Tonar postupně stanovil 11 otázek a hypotéz své vědecké práce, na než se pokusil odpovědět svými publikačními výstupy. Jednalo se o 3 hlavní oblasti, a to 1) metody a způsoby kvantitativního popisu cévní stěny, 2) sledování a studium aterogeneze včetně jejích komplikací a 3) využitelnost morfometrie a 3D rekonstrukce v biomechanice cévní stěny. Právě zvolená metodologie disertační práce představuje přístup, který je využíván v moderních morfologických oborech ve větší míře až s rozvojem výpočetní techniky a s nástupem možností matematického modelování. Doktorand se soustředil na 3 skupiny postupů, které využil ve své práci.

1) Předně šlo o analýzu obrazu (image processing), jejíž principem je získání grafických dat, která se s využitím vhodného softwaru matematicky zpracují, přičemž na výstupu metody

nalezneme popis vlastností vstupního obrazu nebo jistým způsobem modifikované grafické údaje. Při tomto postupu lze využívat různé mezistupně zpracování grafických dat, kterými mohou být například zvýrazňování definovaných polí obrazu, vyhlazování obrysů, přidání slupky objektu apod. V současné době již existuje poměrně velké množství různě komfortních balíků počítačové analýzy obrazu, kdy záleží v podstatě pouze na badateli, které parametry analýzy ve své práci upřednostní.

2) Dalším metodickým přístupem byla stereologie, která umožňuje například odhad povrchu objektu včetně povrchové hustoty, dále odhad délek struktur ve 3D či 2D i odhad ploch a objemů objektů včetně dalších stereologických možností.

3) Třetím metodickým záměrem doktoranda bylo použití metody trojrozměrné rekonstrukce (zde míněno trojrozměrné počítačové rekonstrukce), která je v morfologických oborech v poslední době hojně využívána. Přínosem této metody je především možnost rekonstruování anatomických či histologických struktur velmi často ze sériových histologických řezů, kdy jsme schopni zjistit prostorové vztahy menších částí uvnitř větších vzorků. Vedle možnosti 3D či 4D vizualizace vybraných struktur lze zvoleným postupem získat i cenné kvantitativní údaje například o ploše a objemu sledovaných objektů. Vhodným a efektním využitím uvedených možností, avšak bez využití klasického histologického přístupu, je například konfokální mikroskopie využívající optické řezy tkáně či buněk.

V návaznosti na v disertaci uvedené výsledky vědecké práce Dr. Tonara lze konstatovat, že většina z nich (snad kromě zahrnutých abstrakt) prošla veřejným posouzením, a nepovažuji proto za účelné zde o nich diskutovat. Zaměřím se proto spíše na závěry disertační práce, které považuji za klíčové z pohledu celého průběhu doktorského studijního programu.

Obdobně jako Dr. Tonar považuji za hlavní přínos jeho disertační práce uvedení možnosti hodnocení morfologických informací s využitím víceméně matematických přístupů včetně aplikace statistických metod. Doktorand dobře vystihl výhody metod obrazové analýzy zvláště při automatizaci zpracování velkého množství podobných histologických vzorků. Při studiu aterosklerózy a jejích komplikací navrhl vhodné parametry, které je efektivně sledovat při posuzování vulnerability aterosklerotických lézí. Obdobně navrhl metodiku pro posuzování rozdílů ve stavbě stěny normální a aterosklerotické aorty s využitím experimentu na laboratorní myši. Z hlediska metod morfometrie a 3D rekonstrukce v biomechanice cévní stěny naznačil na základě svých výsledků vhodnost či omezení použitých morfometrických postupů včetně způsobu využití morfometrických údajů pro kompozitní model aortální stěny.

Z hlediska dalšího vývoje badatelské činnosti Dr. Tonara je zřejmá perspektiva v pokračování studia mikroskopické struktury subrenální aorty na modelu chronického selhání potkanů s parciální nefrektomií a hypertenzí, čemuž jistě pomůže již optimalizovaná metodika vzorkování histologických řezů. Rovněž spolupráce s IKEM v Praze, zaměřená na histologické hodnocení vlivu tkáňových lepidel, je slibným přístupem, při němž lze efektivním způsobem využít dosavadní zkušenosti doktoranda. Za zmínku stojí také spolupráce s Flebologickým centrem Praha při výzkumu varikózních vzorků povrchových žil dolních končetin i spolupráce s veterinární univerzitou ve Vídni.

K vlastní disertační práci mám několik poznámek a dotazů, které mají navodit především širší odbornou diskusi o zpracovaném tématu a nikoliv kritiku disertační práce.

- 1) Jak si doktorand představuje další rozvoj a využití matematických postupů (morfometrie a stereologie) v klinické diagnostice?
- 2) Do jaké míry je kvantifikace klíčovým prvkem v současné funkční morfologii?
- 3) Je optimalizace vhodným přístupem ke zpřesňování morfologických údajů?

- 4) Do jaké míry lze přijímat validitu výstupů rekonstrukčního softwaru u neinvazivních diagnostických přístrojů např. typu CT či sonografu?
- 5) Bude možná v budoucnu nějaká míra automatizace při diagnostice patohistologických vzorků?

Dr. Tonara znám z odborných akcí prakticky od doby počátku jeho vysokoškolského studia a mohu prohlásit, že jde o pilného, skromného a cílevědomého studenta, který se nikdy nebál zavádění nových metod a přístupů do morfologických oborů. Výsledky jeho disertační práce jsou toho konec konců důkazem.

Závěrem lze konstatovat, že předložené dílo splňuje všechna kritéria kladená na disertační práci v biomedicínských oborech. Autor prokázal nejen schopnost samostatné vědecké činnosti, ale i schopnost získané výsledky objektivně posoudit a vyvodit odpovídající závěry. Úroveň zpracování i prezentace získaných dat svědčí o velmi dobrých teoretických i praktických znalostech doktoranda. Na základě uvedených skutečností konstatuji, že se jedná o zdařilé vědecké sdělení, a doporučuji proto disertační práci MUDr. Mgr. Zbyňka Tonara k obhajobě s tím, aby mu byl v případě jejího úspěšného průběhu udělen akademický titul doktor ve zkratce Ph.D. podle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

Brno, 14.5.2007

•of. MVDr. Ivan Míšek, CSc.