

## Posudek disertační práce

Název: **Posteriorní dentice člověka: vliv průběhu ontogeneze na velikost a tvar zubu**

Rok: 2024

Autorka: Mgr et. Mgr. Petra Uhlík Spěváčková

Studijní program: Stomatologie, Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni

Školitelka: prof. MUDr. Vlasta Merglová, CSc.

Oponent: doc. RNDr. Miroslav Králík, Ph.D.

### **K tématu a teoretické části**

Téma disertační práce je aktuální a podstatné. Velikostní a tvarová variabilita zubů, zejména korunek zubů, má značný funkční význam u všech primátů, vč. člověka. Nepravidelnosti a odchylky pak mají řadu prakticky závažných konsekvencí, ať už například z hlediska predilekčních míst vzniku zubního kazu (fisurální komplex, bod kontaktu), stěsnávání zubů s ohledem na mikroevoluční trend zmenšování čelistí (ortodoncie) aj. Domnívám se, že v poměru k praktickému významu je tvar zubů zkoumán nedostatečně, snad kvůli svým relativně malým rozměrům a komplexnímu tvaru, a tedy i metodické obtížnosti. Moderní záznamové metody v kombinaci s prostředky geometrické morfometrie tento deficit do určité míry dohání a k tomuto žádoucímu trendu se řadí i předložená disertační práce. Jak geometrická morfometrie, tak dentální topografická analýza patří k pokročilým moderním metodám, které jsou pro analýzu tvaru zubů zvláště vhodné.

Teoretická část je zpracována přehledně, text je srozumitelný a zahrnuje řadu podstatných aspektů tvaru a velikosti zubů, od anatomie, embryologie a morfogeneze, až po variety a variabilitu interpopulační a intrapopulační. Autorka správně chápe variabilitu lidských populací jako statistický jev, kdy většinu znaků je možné najít ve všech populacích a liší se jen četnostmi, u metrických znaků středními hodnotami, ale všechny lidské populace se výrazně překrývají. Upozornil bych jen na to, že ani z hlediska faktorů variability nelze úplně čistě oddělit faktory zodpovědné za rozdíly uvnitř a mezi populacemi (i mezipopulační rozdíly mohou být dány např. rozdíly v patologických procesech, pokud se dané populace liší například v expozici určitému patogenu). Kromě toho „populace“ je metodologický konstrukt, který biologickému ideálu reprodukčně izolované jednotky bude snad odpovídat při srovnání dvou geograficky vzdálených etnik třeba Afriky a východní Asie, hůře už při srovnání dvou vzorků např. v rámci Evropy.

### **K materiálu a metodám**

Asi nejzávažnější připomínky mám k použitému materiálu. V Kapitole 9.1 autorka popisuje způsob záznamu sádrových odlitků chrupu. Z přibližně 2000 naskenovaných odlitků bylo vybráno 250 odlitků náležejících 160 jedincům. Pokud nebyl výběr náhodný a byla to kritéria vycházející z odlitků (resp. chrupů či zubů) samotných, představuje takový výběr potenciálně mechanismus ovlivnění povahy vzorku a musí být explicitně a detailně popsán. Autorka dále uvádí, že „Výběr konkrétních modelů chrupu byl proveden s ohledem na zachovalost okluzní plochy posteriorní dentice“, ale není jasné, jestli se to týká výběru z těch původních dvou tisíc, nebo až nějaké redukce 250 odlitků od 160 jedinců. Každopádně ve vzorku jsou preferovány osoby mladší a/nebo s méně poškozeným chrupem (?). Je otázkou, jak mohl počáteční výběr vzorku ovlivnit smysl srovnání. Že jde o soubor sádrových odlitků chrupu *ortodontických pacientů* a jde tedy celkově o dost specifickou skupinu, jsem se dozvěděl až předposlední (!) větě celé práce.

Z Tabulky 9.1 vyplývá, že pro 2D-GMA bylo použito nejvíce zubů, pro 3D-GMA méně a pro DTA nejméně. Suma zubů odpovídá v textu uvedeným 607 zubům. Nikde se ale neuvádí, jak se to má k jedincům. Vzhledem k tomu, že jedinců bylo zařazeno 160, tvoří vzorek určitou směs zubů pravé a levé (převrácené) strany, do které každý jedinec přispívá více zuby? Pokud ano, pak i hodnocený vzorek jednoho typu zubu (např. M1 horní) představuje *závislé případy* a není možné s ním statisticky pracovat metodami pro nezávislé případy. Odpovídající zub pravé a levé strany jednoho člověka jsou obvykle vzájemně téměř jako zrcadlové kopie, takže zařazení převrácených levých zubů k pravým se blíží situaci, jako by tam byl tentýž zub zařazen dvakrát. Uměle to zvyšuje velikost vzorku bez adekvátního zvýšení přidané variance a fakticky to znamená, že všechny statistické výsledky budou vypadat silnější, než skutečně jsou. Řešením je buď testovat vzorky, kde každý zub je od jiného člověka (tj. skutečně nezávislé případy, zde pravou zvlášť a levou zvlášť), nebo (a ještě lépe) využít k testování nějaký model smíšených efektů (*mixed-effects model*), kde grupovací proměnnou bude jedinec a který vliv korelace v rámci skupiny (zubů jednoho člověka) postihuje. Pokud autorka závislost případů ve vzorku metodicky neošetřila, obávám se, že se na výsledky statistických testů v rámci výsledků nelze spolehnout. Převrácení

útvary jedné strany zrcadlově na druhou je důležitý metodický nástroj pro zabránění subjektivním kognitivním asymetriím při digitalizaci, ale tím nemizí nutnost pravou a levou stranu v datech rozlišovat a adekvátně analyzovat.

V popisu metodiky autorka popisuje definice a digitalizaci bodů (obrázky digitalizace bodů jsou ale až ve *Výsledcích*), ale zde specifikace metodiky geometrické morfometrie končí. Samotná metoda geometrické morfometrie, tj. princip standardizace tvaru superpozičními postupy (jaký typ superpozice?), velikostní standardizace (jaký typ velikostní standardizace?) a další detaily nejsou v popisu metodiky uvedeny. To považuji za podstatný nedostatek, i když je stručný obecný popis geometrické morfometrie zařazen v teoretické části práce. Na začátku kapitoly *Výsledky* autorka popisuje, jaké programy použila k výpočtům, ale nikoliv jaké bylo přesně nastavení geometrické morfometrie v rámci analýz. Následně se pak dostává až k metodě PCA a zobrazení jejich výsledků. Teprve v popisu výsledků CVA se dozvídáme, že bylo použito „prokrustovských koordinát“, což platí pravděpodobně i pro PCA.

I když postup dentální topografie je v Metodách popsán detailněji, pro pochopení některých detailů a zkratk je také třeba se vrátit do teoretické části a najít si je tam. Postup vyhodnocení variet je stručný, ale adekvátní.

V metodice jsem nenašel žádné vyjádření k přesnosti měření a reliabilitě. Autorka sice uvádí údaje pro záznamové zařízení 3Shape 700, ale už ne to, co tato čísla přesně znamenají, kde se vzala a jak se na ně lze spolehnout (co je „rozlišení naskenovaných modelů“ a co je „přesnost“?). Vzhledem k tomu, že výrobci přístrojů vždy v technické dokumentaci nadsazují schopnosti svého produktu a korunka zubu je opravdu velmi malý objekt, specifikace přesnosti a opakovatelnosti měření (tj. všech kroků postupu od skenování po čísla v tabulce, ideálně už od otiskování chrupu po data v tabulce – opakovat otiskování ale zde asi možné nebylo) je základní předpoklad jakékoliv metrické analýzy.

### **K výsledkům**

Popis a zobrazení tvarových rozdílů pomocí analýzy hlavních komponent (PCA) je standardní postup, nenašel jsem ale informaci o tom, z jakých tvarových proměnných se komponenty počítaly (co bylo vstupními daty pro PCA, byly to Prokrustovské souřadnice jednotlivých bodů po superpozici?). Graf tvarových změn na každé PC je z definice vždy jen jeden a představuje tvarovou změnu odpovídající směru dané hlavní komponenty (může být arbitrárně vyjádřen jako deformace jedním nebo druhým směrem, ale vždy paralelně danou osou PC). Grafy deformačních sítí na obrázcích 10.3, 10.4 a 10.5 jsou v práci ale vždy dva, jeden pro ženy a jeden pro muže, přičemž představují v hlavních rysech opačné trendy, ale ne zcela. Podle mého názoru tedy nepředstavují obecnou variabilitu spojenou s těmito hlavními komponentami, ale směr od počátku soustavy souřadnic ke koncensu (průměru) pro dané pohlaví, což musí být z podstaty věci (při existenci určitého dimorfismu a podobném počtu mužů a žen) *přibližně* opačné směry. V jiném případě by musela autorka počítat pro muže a pro ženy samostatnou PCA, pak ale nedává moc smysl je zobrazovat v jednom grafu. Autorka by tedy měla upřesnit, co je na těchto obrázcích znázorněno.

V PCA bodových grafech (ve většině) se některé body (někdy i více bodů) nalézají za hranicí vymezující elipsy. I když není specifikována povaha elipsy, jde evidentně o odlehle hodnoty, některé z nich se vzdalují téměř o celou šířku rozsahu hlavního shluku případů. Pokud jsou i tyto případy zahrnuty v analýze, mohly podstatně ovlivnit výsledky analýzy tvarových rozdílů.

K hodnocení velikosti zubů autorka použila centroidovou velikost (CS). Jako problém spatřuji skutečnost, že zatímco na základě CS z 3D analýzy se pohlaví významně liší, na základě CS z 2D tvarové analýzy nikoliv, což autorka v diskusi zmiňuje, ale dále neřeš, byť je to dost obtížně vysvětlitelné. Předpokládám, že vektorová 3D síť (model zubu) je automaticky kalibrována skenerem 3Shape 700 a surové souřadnice jsou v jednotkách SI (milimetrech nebo mikrometrech), ale autorka neuvádí, jak kalibrovala snímky pro 2D analýzu (printscreeny). V tabulkách ani textu nejsou jednotky CS uvedeny (CS je velikostní proměnná a musí mít reálné jednotky), ale číselně od sebe CS z 2D a CS z 3D modelu výrazně liší. U CS z 3D měření jsou to desítky (M1 pro ženy např. 11,66 a adekvátní směrodatnou odchylkou 0,53), jednotky by mohly být milimetry, ale jaké jednotky platí pro CS z 2D měření (M1 pro ženy např. 516,43 se zcela neadekvátní SD=173,27). Proto se domnívám, že problém zde může být kalibrace velikosti 2D snímků.

Výsledky tvarových analýz se zdají být adekvátní, dimorfismus je patrný u 2D i 3D analýzy, v obou případech slabší pro M2 než pro M1. Osobně bych přesně toto předpokládal jak na základě předchozích metrických studií, tak teoreticky z hlediska potenciálního vlivu pohlavních steroidních hormonů. Nikdo přesně a přímo nezměřil výkyvy hladin testosteronu v prenatálním období v plasmě embrya a plodu člověka, natož individuálně longitudinálně a ve vztahu k vývoji základů zubů. Kromě toho epiteliální

základy/modely zubů se sice vytváří prenatalně a velikost (počet buněk) základu zřejmě hraje roli ve finální velikosti zubu, podstatná je ale i mineralizace, která u M1 může začít (hrbolky) částečně na konci prenatalního období a probíhá převážně časně postnatálně, tj. v období dočasně zvýšených hladin pohlavních hormonů u kojenců (tzv. minipuberta, cca. do půl roku po narození), tj. zastihne mineralizaci části M1, zatímco M2 mineralizuje celá až v období pozdějším, kdy jsou hladiny pohlavních hormonů dětí takřka nedetekovatelné. I z tohoto důvodu bych tedy očekával vyšší dimorfismus u M1 než u M2, což autorka zjistila. Je tedy dost možné, že dimorfismus zubů je komplexní jev s přídavkem jak prenatalních, tak postnatálních procesů, jejichž vliv bychom se měli snažit od sebe odlišit.

Celkově v části geometrické morfometrie postrádám *analýzu alometrie*, tj. (zde) jakým způsobem se mění tvar korunky zubu v závislosti na její velikosti. To je zásadní i při studiu dimorfismu a umožnilo by zjistit, jestli se zuby mezi pohlavími tvarově liší jen kvůli tomu (ve shodě s tím), že zuby mužů jsou obecně větší (tj. jestli velké zuby žen mají maskulinní tvar, malé zuby mužů mají femininní tvar), nebo je za dimorfismem ještě něco jiného, nezávislého na velikosti. Pokud by byl dimorfismus vázaný jak na velikost, tak i nezávislý na velikosti, dalo by se uvažovat o více různých faktorech. Bez analýzy alometrie jsou však vlivy všech faktorů kombinované v jednom efektu dimorfismu bez možnosti jejich odlišení.

Topografickou analýzu považuji za výbornou grafickou vizualizaci z hlediska detekcí, je evidentní, že některé ukazatele jsou dost efektivní při rozlišení dimorfismu ve výskopisu korunky zubu (SA, OA) a dalo by se na nich dále stavět. Otázkou je, zda příprava modelů pro tuto analýzu není příliš pracná. Rozdíly v topografických ukazatelích mezi zuby s a bez přídatných hrbolků je podstatné zjištění a bude asi namístě specifikovat detailně, které přídatné hrbolky a jak se liší svým vlivem parametry korunky. Ovšem testování rozdílů mezi skupinami (nenašel jsem specifikaci testu), které se liší zastoupením mužů a žen, přičemž víme, že muži a ženy se v dané proměnné liší, nepovažuji za smysluplné. Testem pak vlastně nezjistím, jestli je rozdíl daný sledovaným faktorem nebo odlišným zastoupením pohlaví. Je třeba vždy testovat pohlaví samostatně, nebo použít faktoriální uspořádání (zařadit pohlaví jako faktor).

#### **Další meritorní, technické i formální poznámky**

V Abstraktu jsem nenašel explicitní vyjádření cílů práce. Doporučuji rovněž nepoužívat v Abstraktu v něm samém nevysvětlené zkratky.

Doporučuji autorce také vyhnout se kategorickým výrokům v obecné rovině, protože nemusí být pravdivá bezezbytku. Příkladem je několikrát vyjádřený názor, že se „zub po dokončení svého vývoje již přirozeně nemění“ (str. 13). Chápu, že to opodstatňuje studium tvaru zubu i napříč věkovými kategoriemi. Hlavní aspekty tvaru i složení se skutečně nemění, mnoho podstatných detailů však ano. Vynechám-li patologie (např. zubní kaz), abraze okluzní odebrává korunku, mimo okluzi vyhlazuje povrch a přestávají být viditelná perikymata a různé po prořezání patrné drobné hrbolky (např. na řezných hranách řezáků), po celý život přirůstá sekundární dentin a také terciální/reaktivní dentin, po celý život dorůstá zubní cement. Co se týče složení tvrdých tkání, z povrchu (z dutiny ústní) sklovina neustále demineralizuje a remineralizuje, kanálky dentinu se plní obsahem odontoblastů v souvislosti s jejich apoptózou ve vyšším věku (transparence kořene) atd. Mnohé z těchto zcela běžných, přirozených změn jsou podstatou metod pro odhad dožitého věku v dospělosti na základě zubních tkání; významným badatelem v této oblasti byl mimo jiné i profesor Jan Kilian. Proto kategorické konstatování o neměnnosti zubů působí jako přílišné zobecnění. O to více, že právě v důsledku těchto změn (hlavně abraze korunky) je většina metod použitých autorkou v této práci na reálné vzorky z archeologických či forenzních nálezů jen velmi omezeně použitelná (resp. nějaká jejich varianta byla by použitelná nejvíce právě pro objektivní kvantifikaci změn způsobených abrazí, což se neprovádí a mělo by).

Grafická a tabelární prezentace výsledků geometrické morfometrie postrádá některé technické informace, např.: nejsou uvedeny jednotky centroidové velikosti, není uvedena míra zesílení tvarové změny vyjádřené deformačními sítěmi, není uvedena statistická povaha elips na bodových grafech PCA (95% interval spolehlivosti?), není uveden směr pohledu na 2D projekci u vizualizace 3D analýzy (je to pravděpodobně z okluzní strany, ale není to samozřejmé a mimochodem by se hodily i pohledy z jiných stran, když už je to 3D analýza). Rovněž krabicové grafy dentální topografické analýzy nemají označené osy závislých proměnných a nemají vyjádřené jednotky. Chápu, že jde o proměnné počítané složitě a automaticky, ale mají jistě definici a z ní vyplývající rozměr/jednotku. Pokud proměnná má jednotku, je třeba ji uvést, byť je to třeba jen počet (např. počet plošek). Pokud je to ukazatel bezrozměrný, je třeba to rovněž uvést a například specifikovat teoreticky možný rozsah (pokud jde o procenta, je to 0-100, v jiných případech může jít o podíl, který teoretické hranice nemá, nebo jen jednu atd.).

Z hlediska formálního psaní citací se kurzívou obvykle uvádí názvy jednotek, které se váží do svazku, tj. *knihy, časopisy* aj., nikoliv názvy článků, možná ale jde o specifický citační styl.

### **Dotazy k obhajobě**

Dotazy vychází z mého komentáře výše uvedeného a autorka by měla na tyto dotazy komisi odpovědět.

1. Obsahuje analyzovaný vzorek jednoho typu zubu více zubů od jednoho člověka (tj. zub pravé a levé strany)? Pokud ano, jak ovlivňuje zařazení závislých případů v rámci vzorku výsledky statistických testů?
2. Testovala jste opakovatelnost měření? Tj. lze vyjádřit, jakou míru variance reprezentuje šum daný měřením?
3. Jakým způsobem si vysvětľujete, že v jednom případě (3D analýza) se *velikost* korunek zubů významně liší mezi pohlavími a v jiném (2D analýza) nikoliv? Jakým způsobem jste kalibrovala velikost snímků pro 2D měření?
4. Popište vaši interpretaci nižší míry sexuálního dimorfismu druhých stoliček oproti prvním stoličkám.
5. Jaký vliv na výsledné efekty mohl mít fakt, že zdrojem vzorku byly odlitky chrupu ortodontických pacientů?

### **Závěr a doporučení**

Disertační práce Petry Uhlík Spěváčkové představuje výsledek značného úsilí v důležité morfologické tématice, autorka použila kombinaci několika pokročilých analytických metod. Práce sleduje vytčené cíle a výsledky na základě použitého vzorku cíle naplňují. Studie přináší hodnotnou analýzu tvaru korunek první a druhé horní stoličky, dále pak populační frekvence přídatných hrbolků těchto zubů a další analýzy jejich souvislostí. Nedostatky práce vidím zejména v organizaci srovnávaných skupin a statistickém zpracování výsledků. Kombinace více zubů od stejných lidí do jednoho vzorku kompromituje jednu z podmínek statistických testů – nezávislost případů. Proto si podle mého názoru nemůžeme být jisti hodnověrností statistických závěrů. Další problém vidím v porovnávání proměnných zubů s a bez přídatných hrbolků mezi skupinami s odlišným zastoupením mužů a žen. V metodice podle mě chybí vysvětlení podstaty některých kroků postupu geometrické morfometrie a nedostatky jsem shledal i v technických aspektech prezentace výsledků geometrické morfometrie. Tyto oblasti bude třeba ošetřit v případě publikace výsledků. Přesto mnohé z výsledků mohou být relevantní a minimálně z kvalitativního hlediska zaznamenaných morfologických trendů validní. Proto doporučuji, aby se autorka pokusila svoji práci obhájit. Ponechávám na posouzení komise, zda jsou moje výhrady závažné, nebo nikoliv, můžu se také v některých ohledech mýlit. Pokud však z obhajoby a odpovědí autorky na moje dotazy vyplyne, že moje výhrady byly převážně oprávněné, doporučuji disertaci přepracovat.

V Brně 11. března 2024

doc. RNDr. Miroslav Králík, Ph.D.

Ústav antropologie  
PřF MU Brno