

## Posudek oponenta na disertační práci

**Ing. Tomáše Zikmunda**

s názvem

### **Matematické metody pro zpracování obrazu v biologických pozorováních**

Disertační práce Ing. Tomáše Zikmunda je rozdělena do dvou částí: Digitální holografická mikroskopie a Rentgenová počítačová mikrotomografie. Společným tématem obou částí je využití metod pro zpracování obrazu. K oběma částem existuje pouze společný přibližně jednostránkový úvod a jednostránkové shrnutí a obě části tak spolu v podstatě nesouvisí. Překryv použitých metod zpracování obrazu je omezen pouze na základní techniky (globální prahování a značení regionů), které se běžně používají téměř v každé aplikaci počítačového vidění již několik desítek let. Z pohledu matematických metod pro zpracování obrazu nejsou zmíněny ani základní v dnešní době běžně používané metody jako jsou např. grafové řezy, level-set metody, matematická morfologie apod. Z pohledu matematických metod pro zpracování obrazu tak disertační práci hodnotit nelze a je třeba hodnotit přínosy v rámci každé části samostatně s ohledem na danou zobrazovací techniku. Aktuálnost řešeného tématu spatřuji v tom, že je řešeno zpracování obrazů získaných pomocí moderních zobrazovacích metod (holografická mikroskopie a rentgenová počítačová mikrotomografie). Přínosy práce budu proto hodnotit zvlášť za každou samostatnou část.

#### **Hodnocení části 1: Digitální holografická mikroskopie**

Hlavním cílem části 1 bylo vyvinout algoritmus pro zpracování navázaných fázových obrazů v oblasti digitální holografické mikroskopie. Požadavky na vyvinutý algoritmus byly následující: kompenzovat deformace fáze přímo při snímání v režimu časového sekvenčního snímání, vzít v úvahu přítomnost buněk v obrazech, být nezávislý na volbě objektivu, umožnit adaptaci na změny fáze během snímání a segmentovat buňky zvolené uživatelem. **Všechny tyto požadavky i hlavní cíl práce byly dle předloženého textu práce bezevýtku splněny.** Vyvinutý algoritmus v první části považuji za původní a použitelný pro experimenty s malým množstvím buněk s nízkou motilitou v zorném poli pro potřeby digitální holografické mikroskopie. **Výsledek této části byl vhodně publikován** na mezinárodním fóru, konkrétně v Journal of Microscopy.

První část práce považuji za celkově zdařilou a srozumitelně napsanou. Ke způsobu řešení této části práce a souvisejícímu textu mám následující poznámky.

1. Postrádal jsem popis (zmínku) standardních metod pro korekci nerovnoměrného pozadí v obraze jako je například využití nízkofrekvenčních filtrů případně top-hat filtrace. Viz například Lindblad 2001, kde je diskutován podobný problém v oblasti fluorescenční mikroskopie. Zkoušeli jste tyto, případně jiné automatické přístupy pro korekci nerovnoměrného pozadí? Bylo by možné je použít například jako iniciální odhad místo manuální inicializace na prvním snímku tak, jak provádíte v práci?
2. Výsledky dynamického navazovacího algoritmu jsou prezentovány pouze na datech z jednoho jediného experimentu nad jednou konkrétní buněčnou linií (LW13K2). Ve shrnutí práce píšete, že algoritmus může být použit i na jiné typy buněk. Prováděli jste nějaké dodatečné experimenty nebo to je pouze dohad? Pokud jste prováděli další experimenty, proč nebyly v práci popsány? Můžete prezentovat jejich výsledky?
3. Globální volbu prahu podle vzorce (4.2) považuji za potenciálně problematickou, protože se práh počítá ze standardní odchylky hodnot označených jako pozadí. To znamená, že vliv na výslednou hodnotu mohou mít i například malé objekty případně různé artefakty, které nepřísluší buňkám, ale byly klasifikovány jako pozadí. Zkoušeli jste použít nějaké

automatické metody volby prahu například založené na analýze histogramu? Pokud ano, jaké byly vaše zkušenosti?

4. Metoda se zdá být použitelná pouze v případě malých posunů objektů v zorném poli, tj. pro buňky s nízkou motilitou a navíc z principu může fungovat pouze pro izolované objekty (buňky). Jak je těžké připravit experiment, který tyto požadavky splňuje? Buňky pro dlouhodobější pozorování typicky potřebují kontakt s ostatními buňkami, aby se nenastartovala apoptóza. Není to příliš velké omezení?
5. Na straně 22 píšete: „Oblast jádra pozorované buňky je identifikována pozicí bodu  $cg_0$ “? Co se myslí slovem identifikována?  $cg_0$  musí v nové oblasti jádra ležet nebo se přiřazení počítá na základě kritéria nejkratší vzdálenosti?
6. Na straně 26 v závěru práce tvrdíte: „Použitím fuzzy masky pro výběr hodnot pozadí obrazu se zvýšila robustnost kompenzace“. V práci ale nejsou prezentována žádná konkrétní relevantní data, která by toto tvrzení potvrdovala. Rovněž nerozumím, co se myslí pojmem robustnost kompenzace. Můžete to prosím objasnit?
7. Za zásadní výhodu navržené metody je považováno (strana 26), že lze během pozorování měřit parametry buňky a případně změnit médium ve specifickém stádiu života buňky. Není ale takový zásah do snímání v zásadním rozporu s předpokladem metody, že se dva po sobě jdoucí obrazy příliš neliší? Nemůže změna média změnit obraz tak, že navržená metoda prostě přestane fungovat?

## Hodnocení části 2: Rentgenová počítačová mikrotomografie

Hlavním cílem druhé části práce bylo navrhnout algoritmus pro kvantifikaci vzdálenosti vnitřního a vnějšího povrchu kosti, který by umožnil studium rozdílů krysích stehenních kostí napříč experimentálními skupinami. Tento cíl byl splněn pouze částečně. Algoritmus pro kvantifikaci vzdáleností vnitřního a vnějšího povrchu kosti byl navržen, ale jeho testování a vyhodnocení přesnosti a použitelnosti považuji za nedostatečné k tomu, aby mohl být seriózně používán pro studium rozdílů krysích stehenních kostí. **Publikování výsledků této části považuji za problematické.** Plné texty článků, které jsou zmiňovány ve shrnutí (strana 61) se mi nepodařilo dohledat. Zmíněné citace jsem nenalezl ani v seznamu referencí ani na osobní stránce disertanta. Které publikace související s druhou částí práce považujete za klíčové? Je možné vidět jejich plný text?

Po obsahové stránce mám k druhé části práce následující otázky a komentáře:

1. V práci jsem nenašel, kromě obrázku 7.6 na straně 46, jediný obrázek, který by ukazoval, jak vypadala vstupní 3D data získaná pomocí rentgenové počítačové mikrotomografie. Bylo by možné prezentovat několik ortogonálních řezů nasnímanou kostí bez dodatečného zpracování (kromě případného zvýšení jasů a kontrastu) tak, aby si člověk mohl udělat představu o povaze vstupních dat?
2. Segmentace kostního materiálu od pozadí probíhá pomocí globálního prahování s konstantním prahem (strana 45). Jak je (byla) volena tato konstantní hodnota? Jaký je vliv zvoleného prahu na získaná měření? Nelze prah volit automaticky? Předpokládám, že hodnota bude záviset na použitých parametrech snímání a pravděpodobně bude záviset i na použitém vzorku. Jak je zaručena reprodukovatelnost měření? Prováděli jste nějakou studii přesnosti získaných měření na zvoleném prahu?
3. Pro filtrování výsledku binární segmentace používáte 3D mediánový filtr (strana 46). Jakým způsobem ovlivňuje průměr jádra mediánového filtru naměřené parametry (např. tloušťku kosti)? Je stejný průměr vhodný pro malé i velké kosti? Prováděli jste nějaká měření vlivu tohoto parametru na získaná měření?
4. Kolik obrazů bylo použito pro vývoj a kolik pro testování navrženého algoritmu? Byly tyto datové série odlišné? Tuto informaci jsem v práci nikde nenašel.
5. Jak velké byly vaše experimentální skupiny? Na základě kolika obrazů a kolika různých jedinců byly vygenerovány výsledky v kapitole 7.6? Pokud přijmeme, že vyvinutá metoda je dostatečně přesná a objektivní, což na základě popsaného textu nemohu, tak prezentované výsledky pouze naznačují možnosti využití pro charakterizaci tloušťky kostí, ale pro důvěryhodné závěry například ohledně účinnosti testovaného léčiva tak, jak jsou prezentovány v kapitole 7.6, zcela chybí věrohodná statistická analýza.

Po formální stránce práce splňuje obvyklé standardy. Pouze na několika málo místech se objevují formulační a jazykové nepřesnosti, které lze tolerovat.

Celkově, i přes výše zmíněné nedostatky, odvedenou práci vnímám spíše pozitivně. Myslím si, že Ing. Tomáš Zikmund prokázal schopnost samostatné tvůrčí práce a v případě úspěšné obhajoby navrhuji, aby mu **byl udělen akademický titul Ph.D.**

### **Vyjádření k předloženým tezím:**

Díky rozdělení práce na dvě části nemají předložené teze požadovanou jednotnou strukturu dle zaslaných propozic. Cíle práce, použité metody, a dosažené výsledky jsou popsány pro každou část práce odděleně. Toto nepovažuji za zásadní problém. Jako problematické vnímám, že v druhé části, věnované rentgenové počítačové tomografii, chybí popis současného stavu řešené problematiky. Jazyková úroveň tezí je na akceptovatelné úrovni.

V Brně, 1. prosince 2014

doc. RNDr. Petr Matula, Ph.D.

### **Reference**

Lindblad J, Bengtsson E. A Comparison of Methods for Estimation of Intensity Nonuniformities in 2D and 3D Microscope Images of Fluorescence Stained Cells. In: Scand. Conf. Image Anal. Bergen; 2001. p 254–271.