

OPONENTSKÝ POSUDEK

na disertační práci *Mgr. Františka Špoutila* s tématem "MIKROSTRUKTURA TRIBOSFÉNICKÉHO MOLÁRU - SROVNÁVACÍ ANALÝZA"

Předložená disertační práce je zpracována na celkem 174 číslovaných stranách textu a grafické dokumentace. Vlastní disertační práce je formálně víceméně členěna standardním způsobem na 48 stranách a zbývajících 126 je věnováno prezentaci získaných výsledků ve formě 3 příloh. První přílohou je prvoautorská publikace Mgr. Špoutila dle údajů disertanta t.č. v tisku v J. Morphology. Druhá příloha představuje dosud nepublikovaný rukopis k tématu disertace a třetí příloha reprezentuje část editované monografie t.č. v tisku v nakl. Cambridge University Press.

V úvodu je nutno konstatovat, že předložená disertační práce se tématicky dotýká aktuální otázky charakteru a struktury tribosfenického moláru savců v evolučních souvislostech. Pokouší se tedy najít odpověď na významné otázky v oblasti odontologie, které se týkají především mikrostruktury sklovinného pláště tribosfénického moláru, dále stavby skloviny unikuspidních zubů a tribosfénických stoliček, postupu maturace sklovinného pláště tribosfénického moláru i postupu odontogeneze u druhu s tribosfénickými zuby. Neméně zajímavá je i snaha o poznání variability uvnitř tribosfénické stoličky případně variability mezi jednotlivými zuby.

Na začátku práce doktorand správně uvádí, že první bibliografický údaj o tribosfénickém moláru uvedl Simpson (1936) při popisu dentice hmyzožravců, i když v principu se o významné roli tribosfénických zubů při formování dentice savců zmiňují již Cope a Osborn ve druhé polovině 19.století. Oba zmínění badatelé dokonce na klíčovém postavení tribosfénického typu moláru založili svoji teorii o vývoji savčí dentice, která je dodnes široce diskutována. Základním prvkem termínu "*tribosfénický molár*" je existence 3 hlavních zubních hrbolků na okluzální ploše zubu, orientovaných navzájem do trojúhelníku s vrcholem palatinálně v horní a bukálně v dolní čelisti. V případě vývoje dentice u třídy savců se relativně dlouho akceptovala hypotéza o jednocestném vývoji tribosfenického moláru, nicméně na přelomu 20. a 21.století bylo prokázáno, že tento morfologicky klíčový typ zubu vznikl nezávisle na jižní a severní zemské polokouli u zástupců odlišných zoologických skupin savců. Charakter okluzální plochy tribosfénických molárů se nakonec ukázal jako evolučně výhodný pro insektivorní druhy, které se staly klíčovou hnací silou v savčí vývojové linii.

Z hlediska funkce zubu hraje zásadní roli vedle morfologie i jeho chemická struktura. V tomto smyslu jde především o povrchový obal zubu, který podléhá otěru (okluzi) a přímo se tedy podílí na příjmu či zpracování potravy. Jedná se o sklovinu (substantia adamantina nebo enamelum), která je de facto nejtvrďší tkáň v savčím těle. Mgr. Špoutil ve své práci podrobně popsal histologickou stavbu skloviny i její vývoj jako produkt specializovaných buněk - ameloblastů. Jako příklad savců, kteří

tribosfénickým chrupem, vybral netopýry, na jejichž modelu vhodným způsobem demonstroval charakter a utváření sklovinného krytu zubů. Upozornil současně na prizmatický i aprizmatický charakter skloviny u různých druhů a soustředil se na popis struktury sklovinného pláště s využitím morfometrické analýzy jako jedné z metod kvantitativní morfologie. V tomto duchu nebylo možné se logicky nedotknout statistického zpracování získaných výsledků, což doktorand bravurně učinil s využitím testu ANOVA ve statistickém balíku Statistica 8.0 a doprovodných analýz (reziduální diagnostiky, analýzy homogenity variance a Turkeyho post-hoc testu). S pomocí výše zmíněného metodického přístupu sledoval 12 charakteristik. Celkem změřil úctyhodných 2007 sklovinných prizmat, což mu umožnilo získat dostatečně validní výsledky pro jeho závěry.

Svým promyšleným a pečlivým zpracováním zoologického materiálu došel Mgr. Špoutil k následujícím výstupům své disertační práce:

1) Prokázal, že jednotlivé typy skloviny sledovaných savců se mezi sebou liší v mohutnosti krystalitů, což jsou strukturální prvky prizmat, tvořících základ téměř anorganické hmoty skloviny. Různé typy skloviny jsou produkovány v různou dobu amelogeneze a jejich produkce je spojena s morfologickou změnou ameloblastů.

2) Sklovinný plášť tribosfénického typu moláru u netopýrů vykazuje vysokou heterotopii v distribuci skloviny, která odpovídá rozdílným funkčním nárokům na různé části zubu.

3) Heterotopie je přítomna již na úrovni krystalitů.

4) Ukázal, že tribosfénické moláry se mění v průběhu odontogeneze (od erupce po okluzi) a naznačil, že z hlediska vývoje jsou rozhodující stoličky dolní čelisti, podle nichž se prostorově vyladují stoličky horní čelisti.

Jako velmi cenný počín doktoranda hodnotím zařazení přílohy IV "Seznam zkratk a vybraných termínů", kde může čtenář nezabývající se profesionálně odontologií nalézt vysvětlení použitých odborných termínů. Je jen škoda, že se jak v textu úvodních kapitol, tak i v terminologickém slovníčku autor nevyhnul některým výrazovým nepřesnostem (např. místo palatálně je lépe používat termín palatinálně, místo difylodontní nebo monofylodontní dentice je vhodnější používat difyodontní nebo monofyodontní dentice apod.).

K práci mám několik připomínek:

1) Již při úvodním listování v disertační práci mě překvapila poměrně slabá publikační aktivita autora přesto, že znám Mrg. Špoutila jako velmi pečlivého a extrémně pracovitého mladého badatele. Věřím proto, že úspěšným obhájením jeho disertace se roztrhne onen pověstný pytel kvalitních impaktovaných publikací, k nimž má autor dle mého soudu dostatek vlastních vědeckých údajů.

2) Číslování stran v disertaci mně připadá poněkud komplikované. Nejprve je číslováno 48 resp. 50 stran de facto vlastní disertační práce, pak jsou samostatně číslovány vložené přílohy (a to navíc ještě každá zvlášť) a v závěru se autor opět vrací k původnímu číslování stran. Na stranu 50 (pomineme-li očíslování jednotlivých názvů příloh) pak víceméně navazuje strana 171.

3) Mohl by autor vysvětlit, k jaké teorii o vývoji savčí dentice se přiklání a proč? Výzkum vývoje a struktury molariformních zubů je pro to totiž ideální platformou.

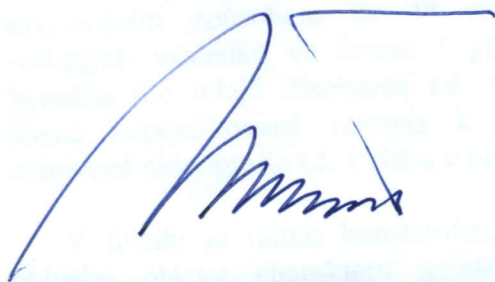
4) Jaký má autor názor na vývojovou roli horní a dolní čelisti savců a potažmo na vzájemné vztahy vyvíjejících se zubů. Jde mi především o jeho představu o chronologii vývoje horní a dolní čelisti i přidružených struktur (především patra, ústní předsíně a dásní).

Závěrem lze konstatovat, že dosud zveřejněné výsledky vědecké práce Mgr. Špoutila jsou v mnoha případech prioritní a nesou jasné stopy úspěšného vedení doktoranda jeho školitelem. Současně nutno konstatovat, že by bylo proto velice žádoucí, aby se získané údaje co nejdříve objevily v nějakém z renomovaných impaktovaných časopisů. Dosavadní

publikační výstupy doktoranda se totiž soustředily především na početná zveřejnění vědeckých výsledků na konferencích a ve sbornících, avšak původních prací je spíše méně.

Lze tedy uzavřít, že předložené dílo splňuje všechna kritéria kladená na disertační práci v zoologických 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 dílo a doporučuji proto přijmout disertační práci Mgr. Františka Špoutila k obhajobě s tím, aby mu byl v případě jejího úspěšného průběhu udělen akademický titul doktor filosofie ve zkratce Ph.D. podle platného zákona.

Brno, 1. 9. 2010



Prof. MVDr. Ivan Mišek, CSc.

Posudek disertační práce

Autor: **Mgr. František Špoutil**

Název: **Mikrostruktura tribosfénického moláru – srovnávací analýza.**

Předložená disertační práce je napsána v rozsahu 48 stran a je doplněna 5 přílohami. Přílohy obsahují kopie tří publikací (dvě jsou v tisku, jedna ve formě rukopisu připraveného k publikaci), kde ve dvou případech je kandidát prvním autorem. Přílohy dále zahrnují strukturovaný životopis se seznamem publikační aktivity autora a Seznam zkratk a vysvětlení vybraných termínů. Vzhledem k terminologické náročnosti zvoleného tématu je posledně jmenovaná příloha velmi užitečná. Vlastní text je členěn klasickým způsobem do 5 kapitol, z nichž kapitoly Úvod, Metodické principy a Hlavní výstupy a jejich shrnutí jsou přehledně strukturovány do podkapitol. Text je doplněn pro čtenáře užitečným seznamem grafických tabulí a statistických tabulek

Zvolené téma disertační práce je velmi aktuální z hlediska evoluce a ontogeneze savčí dentice. Tříhrbolková podoba korunky tribosfénického moláru je považována za jednu z nejdůležitějších charakteristik savců. Typicky se vyskytuje u evolučně nejstarších skupin savců (mláďat ptakořitních, vačic a hmyzožravců. Živočišné druhy s tribosfénickým typem moláru však lze nalézt i v ostatních skupinách savců. Tribosfénický molár tedy představuje velmi zajímavý objekt z hlediska evo-devo studií. Pro jeho plné využití jako modelu jsou nezbytná deskriptivní morfologická data, která vytvářejí předpoklad pro správnou interpretaci dat studií molekulárních na straně jedné a evolučních na straně druhé. Předložená disertační práce přináší zajímavé deskriptivně-anatomické nálezy autora o rozdílné distribuci a mikrostruktuře skloviny, které jsou primární a odpovídají funkčním nárokům v rozdílných částech zubní korunky. Je třeba vyzdvihnout skutečnost, že autor při studiu skloviny shromáždil a zpracoval úctyhodné množství dat, a při jejich získávání inovoval běžně používaný metodický postup při řezání zubu, a sklovinu hodnotil nikoli na jednom, ale na sérii řezů zubem. Za velmi cenný považují autorův závěr, že korunky tribosfénických molárů zvětšují své mesio-distální a buko-linguální rozměry ještě v době erupce, a že správné funkční okluse hrbolků je dosaženo vzájemným přizpůsobením jejich polohy během prořezávání.

Disertační práce je napsaná po jazykové stránce pěkně a velmi čtivě, což obzvláště u deskriptivně-morfologických pojednání není vůbec snadné. Níže jsou uvedeny pouze drobné připomínky k formální stránce textu. V textu se rovněž vyskytuje několik překlepů (např. Jernavall, lingvální, difylodontní), jimž nebude nadále věnována pozornost.

V kapitole **Úvod** je nastíněna problematika studia tribosfénického moláru a specifika jeho skloviny, a detailní přehled současných poznatků o evoluci a funkci tribosfénické dentice, a o jejím ontogenetickém vývoji u současných hmyzožravců. Další část úvodu přibližuje čtenáři současné

znalosti o stavbě a vývoji skloviny savčího zubu. Na závěr jsou presentovány hlavní charakteristiky netopýří dentice, a zdůvodněno její použití pro studium skloviny tribosfénického moláru. Poslední částí kapitoly Úvod je výstižná formulace pěti základních cílů předložené disertační práce.

Dotaz:

Autor uvádí, že vývoj zubů v horní čelisti je vždy zpožděn za čelistí dolní až o 2 zuby. Kterých živočišných druhů se tak výrazné zpoždění týká, a kteří autoři tento jev popsali?

Formální připomínky:

Uvedení zubního vzorce netopýra, pokud možno na schématu, by bylo při čtení velmi nápomocné. Pokud jde o citovanou literaturu, bylo by vhodné uvést recentní review o odontogenesi (např. Caton and Tucker, 2009). Citace DEAN, 2000 chybí v přehledu literatury.

V oddílu 1.1.2. by stály za zmínku recentní práce japonských a finských autorů o odontogenesi u *Suncus murinus*.

V převzatém schématu na Obr. 2 není správně zobrazena zubní dřev, která by měla zasahovat až do kořenů.

Citovaný názor, že moláry jsou v dokonalé oklusi během celého stádia odontogenese by bylo dobré doplnit vlastním komentářem, protože na časnějších stádiích oklusi nelze hodnotit.

Metodické principy

Tato kapitola uvádí přehled použitých metod od přípravy vzorku až po statistické hodnocení výsledků. Oceňuji inovativní přístup autora k běžně užívaným metodám.

Možná by byl vhodnější název kapitoly: „Metodické přístupy“.

Dotaz:

Jak lze hodnotit prořezávání na lebečním materiálu?

Hlavní výstupy a jejich přehledné shrnutí

Tato část disertace je vlastně diskutovaným přehledem výsledků. Mezi hlavní výsledky patří nález rozdílné distribuce skloviny v dentici netopýra, detailní kvalitativní a kvantitativní popis mikrostruktury skloviny a jejích prismatic, určení morfologie a distribuce krystalitů hydroxyapatitu, a popis postupu mineralizace sklovinného pláště u různých zubů netopýří dentice. Obzvláště zajímavé a cenné jsou výsledky týkající se erupce a současné oklusní adaptace hrbolků zubů horní a dolní čelisti (zubních antagonistů).

Dotazy:

- Jak lze doložit, že rozdíly v síle sklovinného pláště jsou výsledkem vývoje a nikoli opotřebením?
- Pokud je klíčovou strukturou pro správnou funkci tribosférického moláru talonid v čelisti dolní, co je obdobnou klíčovou strukturou v čelisti horní?
- Jak byly měřeny rozměry zubů před prořezáním?
- Kde přesně se měřila šířka zadní části patra? Nebyly výsledky měření ovlivněny popsáním pohybem hrbolků při erupci?

Formální připomínky:

Na některých místech textu by upřesnění živočišného druhu usnadnilo orientaci v diskusi o získaných výsledcích.

Namísto „pomalejšího obrušování skloviny“ by byl asi vhodnější výraz „pomalejší opotřebením skloviny“.

Použitý symbol (hlavička šipky) je při čtení textu poněkud matoucí.

Závěry disertační práce jsou dobře formulované a v souladu s formulací cílů disertace. Je škoda, že jsou v jejich výčtu opomenuty zjištěné rozdíly ve stavbě a variabilitě skloviny při porovnání unikuspídních a multikuspídních zubů.

Seznam literatury použité v disertaci v rozsahu 11 stran dokládá, že autor provedl detailní literární rešerši k zadanému tématu.

Závěr oponenta:

Předložená disertační práce jasně ukázala, že autor své problematice dokonale rozumí a je zralým vědeckým pracovníkem. Mgr. František Špoulil prokázal předpoklady k samostatné tvořivé vědecké práci a splnil tak všechny požadavky na udělení titulu „Ph.D.“ za jménem. Jednoznačně doporučuji práci k obhajobě.

V Praze dne 9. září 2010.

Peterková
MUDr. R. Peterková, CSc.



RNDr. Marcela Buchtová, Ph.D.
Ústav anatomie, histologie a embryologie
Fakulta veterinárního lékařství
Veterinární a farmaceutická univerzita
Palackého 1-3
612 42 Brno



OPONENTSKÝ POSUDEK na dizertační práci Františka Špoutila:

Mikrostruktura tribosférického moláru - srovnávací analýza

Předložená dizertační práce má standardní členění vědecké práce. Co se týká rozsahu práce, je spíše stručná – obsahuje 48 stran textu včetně seznamu literatury, nicméně je doplněna třemi publikacemi, svědčícími o snaze studenta publikovat získaná data. Jedna publikace byla přijata do tisku v časopise „Journal of Morphology“, jedna je přiložena ve formě rukopisu a poslední tvoří součást knihy „Evolution of bats“.

Práce se zabývá studiem mikrostruktury a pozdní odontogeneze skloviny netopýrů. Jako modelový organizmus byl vybrán netopýr velký (*Myotis myotis*). Detailní analýza mikrostruktury sklovinného pláště byla provedena na unikuspídní zubech i tribosférických stoličkách pro možnost vzájemného srovnání

Dizertant použil klasickou metodu rastrovací elektronové mikroskopie. Následně byla provedena morfometrická analýza dvanácti různých charakteristik sklovinného pláště, včetně poměrového objemu skloviny, úhlů sklonu prismatic či velikosti jednotlivých prismatic. V kapitole „metodika“ bych uvítala podrobnější popis postupu přípravy vzorků a srovnání, v čem je autorům přístup, oproti dříve publikovaným metodikám, inovativní. Dále v kapitole 2.1 není jasný počet použitých jedinců a počet opakování jednotlivých měření u individuálních vzorků.

Literární úvod i další kapitoly jsou psané jasně a srozumitelně s logickou návazností, což svědčí o dobré orientaci studenta v daném tématu. Anglické a německé

výrazy bych doporučila dát do uvozovek a neskloňovat je. Rovněž diskuzi je lépe psát odděleně od samotných výsledků, jako je tomu u přiložených publikací.

Celkově lze konstatovat, že předložená práce splňuje formální požadavky kladené na dizertační práci. Současně přináší nové poznatky o vývoji a struktuře tribosférického moláru a doporučuji tedy její přijetí k obhajobě.

Doplňující otázka:

Na straně 17 literárního úvodu píšete, že "horní a dolní čelist jsou dva oddělené systémy, ve kterých se společně mohou prosadit jen faktory ovlivňující hrubou stavbu dentice a ne jemné poziční vyladění hrbolků (Zhao et al. 2000)". A dále ve svých závěrech na straně 37, že „rozhodující jsou pro dosažení dokonalé okluze spodní stoličky, podle nichž se prostorově vyladují stoličky horní“. Mohl byste Vaše závěry blíže vysvětlit s souvislostí s dříve publikovanou hypotézou. Jaký funkční experiment a modelový organizmus byste navrhoval pro přímou podporu Vašich závěrů?

Brno, 8.9.2010


RNDr. Marcela Buchtová, Ph.D.