



UNIwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii

dr hab. Marcin Ruciński prof. UM.

*Collegium Anatomicum*, ul. H. Święcickiego 6, 60-781 Poznań

tel.: +48 690 938 038, e-mail: marcinruc@ump.edu.pl

---

Poznań 06.07.18

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Sławomira Wałkowskiego pt. „Nowe aspekty cyfrowej analizy obrazów mikroskopowych w świetle obiektywizacji rozpoznań histologicznych”

Intensywny rozwój technologii informatycznych przyczynił się do rewolucji w analizie preparatów histologicznych, bazującej na cyfryzacji obrazu mikroskopowego. W początkowym etapie tej rewolucji wykorzystano zrobotyzowany mikroskop połączony z kamerą umożliwiającą zdalną transmisję obrazu oraz kontrolę aktualnie wyświetlanego obszaru preparatu. Przełomowym osiągnięciem było opracowanie narzędzi oraz metod pozwalających na pozyskiwanie cyfrowego skanu całego preparatu w bardzo wysokiej rozdzielczości, który następnie mógł być przechowywany, przetwarzany i oglądany niezależnie od oryginalnego szkiełka mikroskopowego. Otrzymane skany obecnie można z powodzeniem umieścić w portalach internetowych dając nieograniczony dostęp do preparatu histologicznego, umożliwiając jego obserwację oraz analizę. W czasie obserwacji możliwe jest przybliżanie wybranych obszarów oraz nawigacja po całym preparacie, jak również analiza sposobu jego obserwacji. Dodatkowo wykorzystanie nowoczesnych algorytmów nauczania maszynowego do analizy wzorców cyfrowego preparatu umożliwia trafne określenie diagnozy histopatologicznej znacznie ułatwiając pracę patologa. W tym kontekście rozprawa mgr Sławomira Wałkowskiego wpisuje się w

nurt aktualnych i niezwykle istotnych badań. Trzon przedstawionej do recenzji pracy stanowi cykl czterech publikacji o względnie wysokich wartościach wskaźnika IF oraz punktacji MNIŚW. Publikacje te zostały wydane w latach 2011 – 2015. We wszystkich publikacjach doktorant pełni rolę pierwszego autora, co świadczy o jego istotnym wkładzie w powstanie powyższych publikacji. Fakt ten został również potwierdzony przez współautorów w stosownych oświadczeniach zamieszczonych w końcowej części doktoratu. Przedstawione publikacje stanowią spójny jednotematyczny cykl badań, których głównym celem było opracowanie i walidacja innowacyjnych metod automatycznej analizy cyfrowych obrazów mikroskopowych reprezentujących całe preparaty histologiczne. Cel ten został zrealizowany poprzez następujące cele szczegółowe: 1) Przeprowadzenie porównawczej analizy jakości cyfrowych preparatów uzyskanych z różnych metod skanowania preparatu histologicznego; 2) Analizę sposobu oglądania cyfrowych preparatów przez studentów podczas egzaminu z histopatologii; 3) Detekcję dwóch różnych jednostek chorobowych na podstawie cyfrowych preparatów jako przykład analizy będącej krokiem w stronę automatycznego rozpoznania.

Układ przedstawionej do oceny rozprawy różni się znacznie od klasycznych opracowań dysertacji doktorskich, jednakże różnica ta wynika ze specyficznej formy rozprawy na podstawie cyklu publikacji. W związku z czym sama rozprawa nie jest obszerna i obejmuje łącznie 47 stron maszynopisu. Składa się ona z listy słów kluczowych, wykazu publikacji stanowiących cykl, wykazu stosowanych skrótów, omówienia cyklu publikacji, streszczenia w języku polskim oraz angielskim, kopii publikacji, opinii komisji bioetycznej UMP oraz oświadczeń współautorów. Co do samego układu pracy doktorskiej mam tylko dwa drobne zastrzeżenia. W opracowaniu zabrakło, moim zdaniem, informacji na temat wszystkich osiągnięć naukowych Doktoranta oraz ważnych etapów mających wpływ na rozwój Jego kariery naukowej. Takie dane zwykle umieszcza się w rozdziale zatytułowanym „życiorys”, którego w opinii recenzenta zabrakło w ocenianej rozprawie. Zdaję sobie jednakże sprawę, iż nie ma jasnych wytycznych dotyczących formy rozprawy na podstawie cyklu publikacji, dlatego proszę tą uwagę potraktować jako luźną sugestię. Druga uwaga dotyczy słów kluczowych. W opracowaniu Doktorant zamiennie stosuje polskie oraz anglojęzyczne

słowa kluczowe. Dla przejrzystości proponowałbym zrobić osobno słowa kluczowe w języku polskim oraz osobno w języku angielskim.

W kolejnym rozdziale zatytułowanym „Omówienie cyklu publikacji” Autor pokrótce przedstawia zagadnienia poruszane w cyklu prac. Rozdział ten rozpoczyna od krótkiego wprowadzenia w zagadnienia poruszane w artykułach. Opisuje także potencjalne korzyści wynikające z pozyskiwania wysokorozdzielczych cyfrowych obrazów całych preparatów histologicznych. Autor słusznie zauważa, że cyfrowe preparaty histologiczne mogą nie tylko zastąpić tradycyjne preparaty na szkiełkach mikroskopowych w typowych zastosowaniach, ale także wnieść dodatkową wartość, w postaci umożliwienia obiektywnego i zautomatyzowanego rozpoznania histologicznego. Zdanie to jest trafnym wstępem do zebranego cyklu prac.

W pierwszej pracy skupiono się na analizie jakości uzyskanych preparatów, która w dużej mierze zależy od zastosowanego urządzenia skanującego. Skupiono się tutaj na ocenie porównawczej jakości identycznych cyfrowych preparatów pozyskanych za pomocą dwóch różnych skanerów preparatów histologicznych. Warto zwrócić uwagę, że w przeciwieństwie do fotografii cyfrowej, oszacowanie jakości zeskanowanych preparatów jest o wiele bardziej złożonym procesem z powodu piramidalnej struktury skanów histologicznych wynikającej z szeregu poziomów powiększeń preparatu jak również rozdzielczości wynoszącej powyżej jednego gigapiksela. W omawianej pracy Doktorant zaproponował nowatorskie podejście automatycznej oceny jakości preparatu bazującej na analizie stopnia kontrastu oraz entropii. Zaproponowany algorytm postępowania dostarczył danych liczbowych które stanowiły wykładnik jakości preparatu. Co ważne otrzymane dane świadczące o jakości były zgodne z obiektywnymi opiniami histopatologów. W związku z czym należy podkreślić, że przedstawiona praca ma ogromny potencjał aplikacyjny, a zaproponowana metoda może zostać wykorzystana do określania parametrów nowych udoskonalonych skanerów preparatów histologicznych. Z analizy literaturowej poruszanego tematu wynika, że istnieją alternatywne metody oceny jakości zeskanowanego preparatu histologicznego bazujące na poziomie rozmycia ostrości (Ferzli R, Karam LJ: A no-reference objective image sharpness metric based on the notion of just noticeable blur (JNB), IEEE Transactions on 2009, 18(4):717-728.) lub z wykorzystaniem tzw. „map oceny skupienia” w danym

powiększeniu preparatu oraz „map ostrości” (Zerbe N, Hufnagl P, Schlüns K: Distributed computing in image analysis using open source frameworks and application to image sharpness assessment of histological whole slide images. *Diagn Pathol* 2011, 6(Suppl 1): S16). Szkoda że w miejscu opisującym publikację zabrakło przedyskutowania własnej metody oceny preparatów histologicznych w odniesieniu do wyżej wymienionych metod.

Kolejne dwa artykuły cyku dotyczyły sposobu oglądania preparatów przez egzaminowanych studentów dostarczając interesujących informacji o wzorcach analizowania preparatów mikroskopowych. Nie udało się przewidzieć prawdopodobieństwa udzielenia poprawnej odpowiedzi na podstawie sposobu obserwacji zeskanowanego preparatu, jednakże istotną wartością przedstawionych prac było zrozumienie sposobu analizowania preparatu histologicznego przez studentów udzielających prawidłowych oraz błędnych odpowiedzi. Okazało się, że studenci udzielający poprawnych odpowiedzi poświęcają mniej czasu na oglądanie preparatów, używają mniejszego powiększenia a oglądane przez nich fragmenty są mniej rozproszone. Jako recenzent pragnę podkreślić interesujący sposób wizualizacji obszarów rozpoznanych przez studentów, również z wykazaniem poszczególnych ramek animacji analizy preparatu histologicznego. Zaproponowany sposób jest bardzo przejrzysty i robi wrażenie tym bardziej, iż łącznie poddano analizie 130 tysięcy obszarów cyfrowych preparatów. Na podstawie zebranych danych przeprowadzono następujące analizy: czas oglądania preparatu, liczba obejrzanych obszarów, średnie powiększenie, rozproszenie obejrzanych obszarów czy skupienie na właściwych obszarach diagnostycznych. W odniesieniu do tej części pracy mam jedno pytanie. Czy studenci przygotowując się do egzaminu oglądali te same preparaty, które później były rozpoznawane podczas egzaminu? Pytanie to może być istotne, ponieważ wyciągnięte wnioski tj. krótszy czas oglądania preparatów, mniejsze powiększenie oraz mniejsze rozproszenie obserwacji podczas udzielenia prawidłowej odpowiedzi może świadczyć o lepszym zapamiętaniu wcześniej obserwowanego preparatu i nie wynika wyłącznie ze zrozumienia budowy obserwowanej struktury. Proszę o komentarz w tej sprawie.

Bardzo ciekawe podejście zastosowano w ostatniej publikacji. Zaproponowano metodę wykrywania dwóch typów nowotworów układu nerwowego na podstawie uczenia

maszynowego. Do walidacji metody wykorzystano cyfrowe preparaty glejaka wielopostaciowego oraz nerwiaka nerwu VIII. Decyzja o wykryciu jednego z typu nowotworu opierała się na detekcji charakterystycznych wzorców obrazu mikroskopowego, pseudopalisad i palisad, używając analizy strukturalnej oraz deskryptorów kształtów. Zaproponowany dość złożony algorytm polegał na wykrywaniu zagęszczeń jąder komórkowych oraz obszarów eozynofilnych wraz z możliwością odfiltrowania fałszywie pozytywnych kształtów, które były usuwane w dalszych etapach analizy. Co istotne, algorytm został tak zoptymalizowany, że odrzucał silnie eozynofilne obszary naczyń krwionośnych wypełnionych elementami morfotycznymi krwi, których w analizowanych preparatach było dość sporo. W kolejnym etapie działania algorytmu dochodziło do dopasowania jąder komórkowych przyległych do obszarów eozynofilnych prowadząc do otrzymania wzorca o pseudopalisadowym lub palisadowym kształcie, wykorzystywanym w etapie decyzyjnym algorytmu. Większość analizowanych przypadków została prawidłowo zaklasyfikowana z wykorzystaniem proponowanej metody. Opracowany algorytm działał względnie szybko, tak więc mógłby zostać wykorzystany w zautomatyzowanym przeglądzie zeskanowanych preparatów histologicznych podczas rutynowej pracy histopatologa, co stanowi niezwykle istotny aspekt praktyczny opracowanej metody.

Podsumowując, poddany recenzji cykl prac, będących podstawą rozprawy doktorskiej mgr Sławomira Wałkowskiego pt. „Nowe aspekty cyfrowej analizy obrazów mikroskopowych w świetle obiektywizacji rozpoznań histologicznych” oceniam bardzo wysoko. Prace te wcześniej zostały poddane recenzji wydawniczej, a uzyskane wyniki cieszą się zainteresowaniem innych badaczy. O tym fakcie świadczy względna wysoka cytowalność przedstawionych publikacji. Według bazy Google Scholar, są one cytowane odpowiednio: 12,5,3,2 razy. Należy podkreślić, że zaprezentowane podejście metodyczne oraz rozwiązania są oryginalne i stanowią istotny wkład w opracowanie nowoczesnych metod analizy wirtualnych preparatów histologicznych.

Nie mam wątpliwości, że przedstawiona do oceny dysertacja spełnia ustawowe wymogi określone w art. 13 ust. 1 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.). Uważam również, że Doktorant osiągnął stopień dojrzałości naukowej

uprawniający Go o ubieganie się o stopień doktora i w związku z tym wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Wydziału Lekarskiego I Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu o dopuszczenie mgr Sławomira Wałkowskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Mając na uwadze wysoką wartość merytoryczną oraz aplikacyjną ocenianej rozprawy wnioskuję o jej wyróżnienie.

Marcin Ruciński

