

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

Naučno veće je na svojoj sednici održanoj 28.4.2016. godine u Beogradu odredilo Komisiju za ocenu završene doktorske disertacije kandidata dr Đurđe Bracanović pod nazivom „Radiološka i imunohistohemijska analiza hiperostoze frontalne kosti: multidisciplinarni pristup u rasvetljavanju nastanka ovog fenomena“. Mentor ove doktorske disertacije je doc. dr Danijela Đonić.

Za članove Komisije su imenovani:

1. Prof. dr Marija Đurić, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu – predsednik komisije
2. Prof. dr Zoran Rakočević, Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu
3. Prof. dr Jelena Sopta, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
4. Doc. dr Vladimir Živković, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
5. Prof. dr Dragana Bogdanović, Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu

Nakon detaljnog pregleda priložene dokumentacije, konsultacija sa mentorom i kandidatom, a prema kriterijumima za ocenu doktorske disertacije, članovi komisije Naučnom veću Medicinskog fakulteta u Beogradu jednoglasno podnose sledeći

IZVEŠTAJ

A. Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija „Radiološka i imunohistohemijska analiza hiperostoze frontalne kosti: multidisciplinarni pristup u rasvetljavanju nastanka ovog fenomena“ obuhvata 7 poglavlja: Uvod, Ciljevi istraživanja, Materijal i metode, Rezultati, Diskusija, Zaključci i Literatura. Prema pravilima studijskog programa Biologija skeleta, a u skladu sa odgovarajućim pravilnicima Medicinskog fakulteta i Univerziteta u Beogradu, ova disertacija je pisana na engleskom jeziku, a na početku disertacije je dat prošireni rezime i na engleskom i na srpskom jeziku. Tekst disertacije od Uvoda do kraja ima 72 strane, ilustrovan sa 21 slikom i 17 tabela. U poslednjem poglavlju navedeno je 109 referenci koje su korišćene u ovoj disertaciji.

UVOD - Na početku uvoda dato je objašnjenje fenomena poznatog kao *hyperostosis frontalis interna* (HFI) kao i njena diferencijalna dijagnoza. Navedeni su osnovni epidemiološki podaci o HFI i istaknuta je njena učestalost kod žena u postmenopauzi. Zatim su prikazani podaci iz literature koji ukazuju na različite hormonske poremećaje koji mogu biti u osnovi nastanka HFI, ali je jasno naglašeno da etiologija i patogeneza HFI i dalje nisu razjašnjene. Navedeni su podaci koji ukazuju na razlike u učestalosti

javljanja ovog fenomena u istorijskim i modernim populacijama. Posebna pažnja posvećena je simptomima i poremećajima koji se dovode u vezu sa postojanjem HFI. Na kraju ovog poglavlja, predstavljene su do sada poznate teorije, razvijene na osnovu histoloških studija, koje su pokušale da objasne proces nastanka HFI.

Jasno formulisane **RADNE HIPOTEZE** bile su da kod žena sa HFI pored zadebljale frontalne kosti, dolazi do zadebljanja i ostalih kostiju lobanje, da kod žena sa HFI postoje promene koštane gustine i morfologije i na postkranijalnom delu skeleta, da HFI zahvata frontalnu kost zbog specifičnih osobina dure koja na nju naleže, da je morfološki izgled različitih tipova HFI, definisanih na osnovu makroskopske klasifikacije, praćen odgovarajućim razlikama u unutrašnjoj arhitekturi kosti, kao i da je moguće uprostiti aktuelnu klasifikaciju HFI i učiniti je podobnijom za radiološku praksu.

Jasno su izloženi konkretni **CILJEVI ISTRAŽIVANJA**. Ciljevi su uključivali ispitivanje razlika u debljini frontalne, okcipitalne i parijetalnih kostiju između postmenopauzalnih žena koje imaju HFI i kontrolne grupe. Takođe, u cilju ispitivanja promena na postkranijalnom delu skeleta, poređena je koštana gustina na kuku i kičmi, kao i spoljašnja geometrija femura kod postmenopauzalnih žena koje imaju HFI i kontrolne grupe. Cilj je bio i ispitivanje razlika u ekspresiji α -estrogenskih i CD34 receptora na duri koja naleže na frontalnu kost kod postmenopauzalnih žena koje imaju HFI i kontrolne grupe. Naredni cilj obuhvatio je poređenje mikroarhitekture frontalne kosti kod postmenopauzalnih žena sa različitim tipovima HFI i kontrolne grupe. Poslednji cilj disertacije obuhvatio je modifikaciju aktuelne makroskopske klasifikacije HFI.

MATERIJAL I METODI – Ova studija obuhvatila je četiri faze istraživanja. U svakoj od faza jasno je definisan uzorak istraživanja. U prvom poglavlju ovog dela disertacije, opisana je prva faza istraživanja, dizajnirana kao studija preseka, i sprovedena u Centru za radiološku dijagnostiku Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Ispitivani uzorak činile žene koje su obavile radiografisanje glave metodom kompjuterizovane tomografije (CT) zbog hroničnog sinusitisa. Samo žene u postmenopauzi (one koje su poslednji menstrualni ciklus imale najmanje 12 meseci pre radiografisanja) uključene su u studiju. Definisan je i kriterijum za isključivanje iz studije koji je obuhvatio postojanje oboljenja kostiju (osim HFI), tumore mozga, meningeome, oboljenja bubrega, primarni hiperparadioidizam i Padžetovu bolest. Prikazana je metodologija po kojoj su žene podeljene u kontrolnu grupu (žene bez HFI) i grupu žena sa HFI. Opisan je protokol istraživanja debljine kranijalnih kostiju (metodom CT), koštane gustine na kičmi i kuku (DXA metoda) kao i analiza spoljašnje geometrije proksimalnog femura (HSA analiza). U narednom poglavlju opisan je način prikupljanja uzoraka dure koja naleže na frontalnu kost kod žena sa HFI i istodobnih žena u kontrolnoj grupi, sakupljenih sa kadavera donora tokom rutinskih obdukcija na Institutu za sudsku medicinu Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Opisan je i način pripreme, imunohistohemiskog bojenja, kao metodi kvantifikacije α -estrogenskih i CD34 receptora na duri. U trećem poglavlju opisan je protokol istraživanja mikroarhitekture frontalne kosti. U sledećem poglavlju objašnjen

je protokol prikupljanja uzoraka frontalne kosti žena sa HFI i žena bez HFI iste starosne dobi i opisane su karakteristike uzorka korišćenih za ispitivanje mikroarhitekture frontalne kosti, način pripreme uzorka, način snimanja trabekularne i kortikalne kosti, kao i postupak evaluacije mikroarhitekture. U narednom poglavlju opisan je metod fraktalne analize, definisani su i objašnjeni parametri oblika korišćeni prilikom analize oblika unutrašnje ivice lobanje kod žena sa različitim tipovima HFI. Poslednje poglavlje opisuje statističku analizu podataka kao i način na koji je određena potrebna veličina uzorka pri snazi studije od 80%.

REZULTATI – Rezultati su detaljno, pregledno i sistematično prikazani i ilustrovani sa 17 tabela i 21 slikom. Prvo su prikazani rezultati ispitivanja debljine kostiju lobanje, denzitometrijskih parametara u relevantnim reionima (kuk i kičma) kao i analize spoljašnje geometrije proksimalnog femura kod postmenoapuzalnih žena koje imaju HFI i žena odgovarajuće starosti bez HFI. U drugom delu prikazani su rezultati analize trodimenzionalne mikrostrukture frontalne kosti femura kod postmenoapuzalnih žena koje imaju HFI i žena odgovarajuće starosti bez HFI. U trećem delu prikazani su rezultati analize ekspresije CD34 i α -estrogenskih receptora na duri kod ispitivanih grupa žena. U poslednjem poglavlju dati su rezultati analize oblika unutrašnje ivice lobanje metodom fraktalne analize kod ispitivanih grupa žena. Takođe su prikazane razlike u vrednosti definisanih parametara oblika dobijenih ovom analizom.

DISKUSIJA – Diskusija obuhvata 12 strana na kojima su sukcesivno obradjeni postavljeni ciljevi disertacije, a u skladu su i sa objavljenim radovima iz teme disertacije. U ovom poglavlju su rezultati detaljno i kritički analizirani i upoređeni sa najnovijim saznanjima u ovoj oblasti. Dat je i shematski prikaz koji ilustruje proces nastanka HFI prema rezultatima ove studije.

ZAKLJUČAK – Na osnovu rezultata istraživanja, kandidat je jasno i detaljno naveo glavne zaključke iz kojih se vidi da su ostvareni postavljeni ciljevi ispitivanja.

LITERATURA – Ovo poglavlje sadrži 109 referenci mahom iz međunarodnih časopisa. Adekvatno su zastupljene najnovije reference u ovoj oblasti.

B. Kratak opis postignutih rezultata

Rezultati ove studije doprineli su boljem razumevanju nastanka HFI. Na makro planu, prikazani rezultati su pokazali da kod žene sa HFI osim frontalne kosti, dolazi do zadebljavanja i parijetalnih, i okcipitalne kosti. Šta više, pokazano je da frontalna kost prva zadebljava, a zatim sukcesivno parijetalne, pa okcipitalna kost. Vrednosti denzitometrijskih parametara u svim ispitivanim regionima kao i rezultati analize

spoljašnje geometrije proksimalnog femura, nisu pokazali značajne rezlike između postmenopauzalnih žena sa HFI i onih bez. Na mikro planu, pronađene su značajne razlike u mikroarhitekturi frontalne kosti između postmenopauzalnih žena sa HFI i kontrolne grupe odgovarajuće starosti. Žene sa HFI imale su značajno viši procenat koštane frakcije u regionu diploe, značajno deblje trabekule organizovane u koštano tkivo „tanjiraste“ strukture, kao i značajno manje vrednosti stepena separacije i stepena povezanosti trabekula u poređenu sa ženama u kontrolnoj grupi. Takođe, struktura unutrašnje lamine frontalne kosti kod žena sa HFI pokazala je značajno više vrednosti totalne poroznosti i prosečne veličine pora u poredjenju sa kontrolnom grupom. Veće pore u unutrašnjoj lamini frontalne kosti kod žena sa HFI mogu nastati kao posledica penetracije krvnih sudova iz dure, dovodeći do dipoloizacije unutrašnje lamine. Primenom imunohistohemijske kvantifikacije ekspresije CD34 receptora na duri frontalnog regiona, pokazana je značajno veća ekspresija ovog receptora kod žena sa HFI, što je ukazalo na povećanu vaskularizaciju. Metod fraktalne analize radiograma glave žena sa različitim tipovima HFI, pokazao je razlike u parametrima oblika samo između najizraženije forme HFI u poređenju sa ostalim tipovima HFI.

Rezultati ovog istraživanja su pokazali da je HFI lokalni fenomen, koji zahvata samo kosti lobanje, dok postkranijalni deo skeleta nije zahvaćen. Ukoliko disbalans polnih hormona učestvuje u nastanku HFI, svoj uticaj mogao bi da ostvari indukujući lokalne promene na samoj duri, koje dovode do njene povećane vaskularizacije i posledično povećane proliferacije osteoblasta na kostima lobanje. Povećana vaskularizacija dure koja naleže na frontalnu kost, kao i povećana poroznost unutrašnje lamine, kod žena koje imaju HFI, nedvosmisleno ukazuje na postojanje korelacije između pojačane vaskularizacije, bilo kog porekla, i nastanka HFI. Makroskopski tipovi HFI ne razlikuju se na nivou koštane mikrostrukture, što ne podržava teoriju o njihovoj sukcesivnoj prirodi. Tačnije, rezultati analize mikroarhitekture i fraktalna analiza ukazuju na to da samo dva različita tipa HFI (umerena i izražena forma) treba dalje razmatrati.

C. Uporedna analiza rezultata kandidata sa rezultatima iz literature

Rezultati ove disertacije su u diskusiji detaljno i kritički upoređeni sa podacima iz literature. Rezultati analize debljine kranijalnih kostiju su u saglasnosti sa drugim studijama koje su takođe pokazale zadebljanje kranijalnih kostiju kod osoba sa HFI. Budući da kod osoba sa HFI nije ispitivana koštana gustina i spoljašnja morfologija na postkranijalnom delu skeleta, nije moguće direktno poređenje kvantitativnih rezultata ove disertacije sa podacima iz literature. Kako kod osoba sa HFI do sada nije rađena imunohistohemiska analiza dure, mikorstrukturna evaluacija frontalne kosti i fraktalna analiza radiograma glave, dobijene rezultate nije bilo moguće porediti, ali su na jasan i logičan način protumačeni u diskusiji disertacije. Kandidat je sveobuhvatno pristupio analizi dostupne literature o HFI, i dizajnirao studiju čiji rezultati značajno doprinose rasvetljavanju nastanka ovog fenomena.

D. Objavljeni rezultati koji čine deo disertacije

O naučnom kvalitetu ove doktorske disertacije govore i 1 publikovan i 1 prihvaćen rad koji je procesu publikacije u *vrhunskim međunarodnim časopisima (kategorija M21)* sa kumulativnim impakt faktorom 3,451 (prema Pravilniku o postupku i načinu vrednovanja i kvantitativnom iskazivanju naučnoistraživačkih rezultata istraživača).

Radovi u časopisima indeksiranim u Journal Citation Report listi

1. Djonic D, **Bracanovic D**, Rakocevic Z, Ivovic M, Nikolic S, Zivkovic V, Djuric M. Hyperostosis frontalis interna in postmenopausal women-Possible relation to osteoporosis. *Women Health*. 2016 Apr 19;1-14. **IF 1,354 M21**
2. **Bracanovic D**, Djonic D, Nikolic S, Milovanovic P, Rakocevic Z, Djuric M. 3D-microarchitectural patterns of Hyperostosis frontalis interna: a micro-computed tomography study in aged women. *Journal of Anatomy* *in press* **IF 2,097 M21**

E. Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa disertacije)

Rezultati doktorske disertacije dr Đurđe Bracanović u potpunosti odgovaraju predloženim ciljevima rada, koji su u skladu sa savremenim trendovima istraživanja u oblasti biologije skeleta. Ova studija prilagodila je postojeću klasifikaciju HFI svakodnevnoj radiološkoj praksi, i definisala samo dva različita tipa HFI (umerena i izražena forma). Osim utvrđivanja razlika u mikrostrukтури frontalne kosti koje se javljaju kod žena sa različitim tipovima HFI i kontrolnoj grupi, pokazano je i da različiti morfološki tipovi HFI ne mogu biti posmartani kao sukcesivne faze u procesu njenog nastanka. Ova studija je utvrdila i neka od specifičnih svojstava dure koja naleže na frontalnu kost i koja se ogleda u povećanoj vaskularizaciji frontalne dure žena koje imaju HFI. Takođe, pokazan je lokalni karakter koštanih promena kod žena sa HFI, dok postkranijalni deo skeleta ne pokazuje promene koštane morfologije i gustine.

F. Predlog komisije za ocenu završene doktorske disertacije

Doktorska disertacija „Radiološka i imunohistohemijska analiza hiperostoze frontalne kosti: multidisciplinarni pristup u rasvetljavanju nastanka ovog fenomena“ kandidata dr Đurđe Bracanović je aktuelna, zasnovana na originalnoj i relevantnoj ideji, dobro odabranoj i savremenoj metodologiji, originalnim i podrobno analiziranim rezultatima, kao i jasnoj diskusiji dobijenih podataka, i da daje značajan doprinos naučnoj oblasti biologije skeleta. O naučnom kvalitetu doktorske disertacije govori i 1 publikovan i 1 prihvaćen rad koji je procesu publikacije u *vrhunskim međunarodnim časopisima (kategorija M21)* sa kumulativnim impakt faktorom 3,451. Po svom sadržaju i formi ova disertacija ispunjava sve kriterijume dobro napisanog doktorskog rada, te Komisija jednoglasno i sa zadovoljstvom predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta da prihvati doktorsku disertaciju dr Đurđe Bracanović, i da odobri javnu odbranu.

U Beogradu, 1. jun 2016. god.

MENTOR

Doc. dr Danijela Đonić

ČLANOVI KOMISIJE

1. Prof. dr Marija Đurić,
predsednik komisije

2. Prof. dr Zoran Rakočević

3. Prof. dr Jelena Sopta

4. Doc. dr Vladimir Živković

5. Prof. dr Dragana Bogdanović
