

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

Izveštaj o oceni završene doktorske disertacije

„Hiperostoza frontalne kosti kod muškaraca: makro i mikro morfološke promene kostiju”

Kandidat: Dr Danica Cvetković

Odlukom Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu br. 9700/6 od 21. novembra 2019. godine imenovana je Komisija za ocenu podobnosti prijavljene doktorske disertacije „Hiperostoza frontalne kosti kod muškaraca: makro i mikro morfološke promene kostiju” kandidata dr Danice Cvetković, u sastavu:

1. **Prof. dr Slobodan Nikolić**, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
2. **Prof. dr Danijela Đonić**, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
3. **Prof. dr Roger Byard**, School of medicine, University of Adelaide (Australia)

Mentor: Prof. dr Vladimir Živković

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, Komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

I Z V E Š T A J

A. Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija dr Danice Cvetković napisana je na 91 strani i podeljena na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 5 fotografija i 35 tabela. Doktorska disertacija sadrži podatke o komisiji, sažetak i biografiju kandidata na engleskom i srpskom jeziku.

U prvom delu, **Uvodu**, definisan je pojam hiperostoze frontalne kosti (*hyperostosis frontalis interna* – HFI). Opisan je način dijagnostikovanja ovog fenomena, sa detaljnim makroskopskim opisom kada se uoči na obdukciji. Navode se oboljenja i stanja koja se mogu razmatrati u diferencijalnoj dijagnozi i jasno definišu kriterijumi za njihovo razlikovanje od HFI. Nabrojane su sve klasifikacije HFI, zasnovane na makroskopskom izgledu i radiološkim karakteristikama. Tu je i

diskusija o problemima sa kojima se istraživači susreću kada procenjuju prevalenciju ovog fenomena u savremenim i arheološkim populacijama i navode se procenjene učestalosti kod muškaraca i žena. Detaljno je opisan histopatološki nalaz HFI. Razmatrana je patofiziologija ovog fenomena, polazeći od anatomije i embriološkog razvoja čeone kosti, preko modela koji objašnjavaju mehanizam nastanka ovog fenomena. Značajan deo Uvoda posvećen je pregledu literature i diskusiji o etiologiji HFI, sa naglaskom na razlikama u učestalosti kod muškaraca i žena i pretpostavljenoj ulozi polnih hormona u nastanku HFI. Opisuje se pojava HFI kod muškaraca sa različitim formama hipogonadizma, koji se dovodi u vezu sa etiologijom hiperostoze. Postavlja se pretpostavka da HFI ne predstavlja samo lokalizovani, već sistemski fenomen koji verovatno prate promene na ostalim delovima skeletnog sistema. U poslednjem delu, razmatra se potencijalno korišćenje HFI u forenzičkoj antropologiji, kao dodatnog faktora u proceni pola i starosti neidentifikovanih skeletnih ostataka.

Nakon Uvoda, definisani su istraživački **Ciljevi**:

1. Pojava HFI kod muškaraca ne zavisi od starosti osobe, dok kod žena zavisi.
2. Makroskopska morfologija HFI kod muškarca i žena jeste ista.
3. Kod muškaraca sa različitim tipovima HFI nema razlike u dijametrima lobanje, niti u debljini drugih kostiju lobanje.
4. Makroskopska morfologija HFI kod muškaraca i postojanje različitih tipova HFI praćena je i odgovarajućim promenama mikroarhitekture čeone kosti.
5. Promene mikroarhitekture čeone kosti u različitim stadijumima HFI kod muškaraca i žena jesu iste.
6. Osobe sa HFI imaju mikrostrukturne promene na butnoj kosti koje zavisi od starosti, bez obzira na svoj pol.
7. Strukturne promene na butnim kostima između muškaraca i žena sa HFI i uparenih po starosti manje su izražene nego promene na na butnoj kosti između muškaraca i žena bez HFI.
8. Postojanje HFI može biti od koristi kao dodatni kriterijum u određivanju pola i starosti osobe prilikom identifikacije skeletnih ostataka.

U delu **Materijal i metode** navedeno je da je izvođenje istraživanja odobreno odlukom br. 2650/XII-14 koju je doneo Etički komitet Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Prvi deo istraživanja bila je opservaciona autopsijska studija preseka sprovedena na obdukcionom materijalu Instituta za sudsku medicinu Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Uzorak je podeljen u četiri grupe: studijska grupa muškaraca sa HFI (N=41) i tri kontrolne grupe (55 muškaraca bez HFI, 119 žena sa HFI i 202 žena bez HFI). Navedeno je da su kod svakog slučaja sa HFI, dva forenzička

patologa nezavisno potvrdila tip HFI koristeći ranije definisanu makroskopsku klasifikaciju, od najlakše forme – tip A, do najteže – tip D (prema Herškovic i sar., 1999). Analizirane su starosna distribucija, makroskopske i morfološke karakteristike lobanje muškaraca sa HFI i upoređivane sa lobanjama žena sa HFI. Drugi deo istraživanja je dizajniran kao studija slučajeva i kontrola i sprovedena je na odbranim slučajevima iz prethodnog uzorka, koji su upareni po starosti. Uzorci čeonih kosti uzimani su samo od osoba sa HFI (muškaraca i žena) i snimani korišćenjem mikrokompjuterizovane tomografije (mikro-CT snimanje, koje je sprovedeno u Laboratoriji za antropologiju Instituta za anatomiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu). Uzorci gornjeg okrajka butne kosti uzeti su od osoba oba pola, sa i bez HFI, nakon čega su snimani korišćenjem dvoenergetske rendgenske apsorpcimetrije (DXA) u cilju određivanja parametara koštane gustine. Nakon DXA snimanja, iz regiona lateralnog dela vrata butne kosti isečeni su delovi za mikro-CT snimanje i analizu. Iz podataka dobijenih DXA snimanjem dobijeni su parametri strukturne analize (*hip structure analysis – HSA*). Analizom svih prikupljenih podataka (DXA, HSA i mikro-CT) ispitivana je mikroarhitektura čeonih kosti sa različitim stadijumima HFI, da li koštano zadebljanje čeonih kosti prate makroskopske i/ili mikroarhitektonske promene butne kosti, odnosno da li HFI indukuje sistemske promene strukture kostiju.

U poglavlju **Rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati kroz 5 fotografija i 35 tabela.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada. Pokazano je da je HFI fenomen koji se javlja kod pripadnika oba pola, ali u ranijem životnom dobu i blažem stadijumu kod muškaraca u odnosu na žene. Stoga je istaknuto da bi menopauza mogla biti ključan momenat za pojavu HFI kod žena, dok kod muškarca neki drugi faktori, najverovatnije u sadejstvu sa disbalansom polnih hormona dovode do nastanka HFI. Isti faktori najverovatnije deluju regionalno na sve kosti lobanje, kod pripadnika oba pola. Pokazano je da se stadijum HFI ne može utvrditi na osnovu mikroarhitekture čeonih kosti. Istaknuto je da isti etiološki faktori koji dovode do nastanka HFI najverovatnije deluju i na udaljenim mestima (na butnu kost) i to i kod muškaraca i kod žena, što se pokazalo kroz promene kvantitativnih i kvalitativnih parametara mikroarhitekture butne kosti. Zaključeno je da se u sudskoj medicini HFI može koristiti kao dodatni kriterijum za procenu pola i starosti skeletnih ostataka, uz korišćenje ostalih metoda forenzičke antropologije.

Literatutura sadrži spisak 127 referenci korišćenih u izradi disertacije.

B. Kratak opis postignutih rezultata

Rezultati doktorske disertacije ukazuju da pojava HFI kod muškaraca ne zavisi od starosti osobe. U momentu nastanka HFI, muškarci su mlađi od žena, a njihov rizik da imaju ovo stanje isti je kao i kod žena mlađih od 55 godina. Nakon tog perioda, pojava HFI je uslovljena starošću samo kod žena. Muškarci najčešće imaju blaže stadijume (tipovi A i B) i stepen izraženosti HFI nije uslovljen starošću. Žene imaju skoro četiri puta veću šansu da ispolje najteži stadijum HFI (tip D). Pokazano je da je koštano zadebljanje najizraženije na čeonj kosti kod svih osoba sa HFI, ali i da su ostale kosti lobanje takođe zahvaćene procesom. Kod muškaraca, HFI ne utiče na zapreminu lobanjske duplje, dok je kod žena sa HFI uzdužni dijametar lobanje lako smanjen. Stadijum HFI se ne može utvrditi na osnovu mikroarhitekture čeone kosti. Kod pripadnika oba pola, mikroarhitektura čeone kosti sa HFI jeste ista, bez obzira na stepen izraženosti. Muškarci sa HFI imaju nešto veće vrednosti koštane gustine u regionu butne kosti od muškaraca bez HFI. U poređenju sa kontrolama uparenim po starosti, žene sa HFI imaju nešto niže vrednosti koštane gustine, ali bez statističke značajnosti. Nakon korigovanja prema starosti, visini i težini, muškarci sa HFI imaju nešto bolje vrednosti koštane gustine od žena sa HFI, ali ovaj rezultat nije pokazao statističku značajnost. Osobe sa HFI oba pola su podložnije prelomu vrata butne kosti nastalom dejstvom kompresivnih sila, u poređenju sa kontrolama uparenim po starosti. Parametri strukturne analize butne kosti se ne razlikuju između muškaraca i žena sa HFI, osim u predelu vrata butne kosti gde muškarci pokazuju bolju otpornost na sile savijanja. Muškarci sa HFI imaju veću gustinu trabekularne kosti i trabekule su međusobno bliže. Žene sa HFI imaju veću gustinu kortikalne kosti, koja je zbog toga manje porozna. Upoređivanjem parametara mikroarhitekture butne kosti između muškaraca i žena sa HFI nisu dobijene razlike, ni u trabekularnoj ni u kortikalnoj kosti. U slučaju da su na neidentifikovanom skeletu ispoljeni koštani znaci starenja, a na lobanji težak stadijum HFI, kosti najverovatnije pripadaju ženskoj osobi starosti preko 70 godina. Merenje debljine čeone, slepoočne i potiljačne kosti na lobanji sa HFI neće biti od koristi za procenu starosti neidentifikovane osobe.

C. Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Iz pregleda literature ove disertacije, vidi se da postoji samo nekoliko radova koji su se bavili istraživanjem ovog fenomena kod muškaraca i da je većina u formi prikaza slučaja. U originalnim studijama koje su se bavile HFI, uzorak su uglavnom činile žene ili neproporcionalno mali broj muškaraca.

Rezultati ovog istraživanja ukazuju da se HFI kod muškaraca u 66% slučajeva ispoljava u blažim formama (tip A i B). Slično je pokazano i u drugim studijama (Heršković i sar., 1999). Teže

forme HFI (tip C i D) su ređe zastupljene kod muškaraca (Herškovic i sar., 1999), mada ih je u ovoj studiji bilo čak 4/41 (10%). Ovakav rezultat dr Cvetković objašnjava zastupljenošću modernije populacije u svom uzorku, sklone specifičnom stilu života, uzimajući u obzir zaključak većine istraživača da se najteže forme HFI najčešće javljaju u korelaciji sa hormonskim disbalansom (Herškovic i sar., 1999; Mej i sar., 2010; Nil i sar., 1974).

U ovoj studiji, težina ispoljavanja HFI nije bila u korelaciji sa starošću ispitanika, kod oba pola. U jedinoj eksperimentalnoj studiji čiji su uzorak činili samo muškarci sa HFI, Mej i saradnici pokazali su pozitivnu korelaciju između učestalosti HFI (ne i težine ispoljavanja) i dužine trajanja blokade androgenih hormona u terapiji muškaraca sa karcinomom prostate (Mej i sar., 2010). Poređenjem ovih rezultata, dr Cvetković ističe da bi težina ispoljavanja HFI kod muškaraca možda pre zavisila od potentnosti pretpostavljenog etiološkog faktora (najverovatnije disbalansa polnih hormona), nego od dužine izloženosti datom faktoru.

U datom uzorku je pokazano da su osobe oba pola sa HFI imale deblju frontalnu i temporalnu kost, što se slaže sa rezultatima drugih studija (Bracanović i sar., 2016; Nikolić i sar., 2010; Mej i sar., 2012). Kod žena sa HFI, longitudinalni dijametar lobanja bio je smanjen u odnosu na žene bez HFI, što su pokazali i drugi istraživači dovodeći u vezu HFI sa atrofijom mozga praćenom simptomima demencije (Mej i sar., 2012). Dr Cvetković ističe da je verovatnije da je smanjena zapremina lobanjske duplje kod žena sa HFI (koje su u najvećem procentu starije od 70 godina) kompenzovana staračkom atrofijom mozga. Sa druge strane, rezultati ove studije pokazuju da se kod muškaraca sa HFI ne ispoljavaju značajna smanjenja u dijametrima lobanje. Nije bilo sličnih studija sa kojima se mogao prorediti ovaj rezultat, ali kako muškarci ispoljavaju blaže forme HFI (Herškovic i sar., 1999), očekivano je da kod njih ne postoji smanjene zapremine lobanjske duplje, niti značajniji neurološki simptomi.

Ruhli je pokazao da mikro-CT snimanje može biti korisno u evaluaciji težine ispoljavanja HFI (Ruhli i sar., 2007). Druge studije su pokazale da se kod žena podtipovi HFI ne mogu razlikovati na nivou mikroarhitekture frontalne kosti (Bracanović i sar., 2016). Rezultati ove disertacije pokazali su da je mikroarhitektura frontalne kosti ista kod muškaraca i žena sa HFI, kao i da se podtipovi HFI ne mogu razlikovati samo na osnovu mikro-CT snimanja, i to kod oba pola. Ovakav nalaz podržava zaključak koji su Herškovic i saradnici doneli nakon studije u kojoj je rađena makroskopska, histološka i CT evaluacija osoba sa HFI, naglašavajući da najverovatnije da kod oba pola isti proces dovodi do koštane formacije karakteristične za HFI (Herškovic i sar., 1999).

Muškarci sa HFI imaju veću koštanu gustinu (BMD) u vratu butne kosti i u celom uzorku butne kosti, u poređenju sa muškarcima bez HFI uparenim po starosti. Ovakav nalaz dr Cvetković

upoređuje sa rezultatima kliničkih studija u kojima je pokazano da su koncentracije estradiola u serumu starijih muškaraca pozitivno korelirale sa BMD u vratu butne kosti (Bian i sar., 2015). U drugoj studiji, niske koncentracije estradiola i testosterona kod muškaraca povezane sa većim gubitkom koštane mase (Koli i sar., 2010). U ovoj studiji žene sa HFI su imale niže vrednosti BMD u vratu i u celom uzorku butne kosti. Ovakav nalaz se ne slaže sa rezultatima studije u kojoj su žene sa težim tipom HFI imale najveće vrednosti BMD u predelu kuka i kičme, u poređenju sa ženama koje nisu imale HFI ili su ispoljavale blaže forme (Đonić i sar., 2016). Dr Cvetković zaključuje da se ove razlike mogu objasniti značajnom disproporcijom u starosti ženskog uzorka (u navedenoj studiji, žene su u proseku bile 10 godina mlađe).

Rezultati ove disertacije ukazuju da se parametri strukturne analize butne kosti ne razlikuju između muškaraca i žena sa HFI, osim u predelu vrata butne kosti gde muškarci pokazuju bolju otpornost na sile savijanja. U literaturi nema studija u kojima su parametri strukturne analize ispitivani kod osoba sa HFI. U ovom istraživanju je jasno pokazano da postoje promene kvantitativnih i kvalitativnih parametara mikroarhitekture butne kosti, kod osoba sa HFI, oba pola. Kako je ovo prva studija u kojoj je takva analiza rađena u populaciji sa HFI, nije bilo studija čiji bi se rezultati poredili. Dr Cvetković ovaj rezultat analizira kroz pretpostavku da u etiologiji HFI najvažniju ulogu igra poremećen odnos polnih hormona i razmatra njihov različit efekat na trabekularnu i kortikalnu kost, za šta postoje podaci u literaturi (Kiana i sar., 2003; Kolvaretr i sar., 2009; Sims i sar., 2002).

Postoje studije u kojima je razmatrano upotreba HFI kao dodatnog markera u određivanju starosti i pola neidentifikovanih skeletnih ostataka (Mej i sar., 2011; Devrient i sar., 2005). Ako bi od skeletnih ostataka bila dostupna samo frontalna kost sa izraženom HFI, rezultati ove studije pokazuju da ona najverovatnije pripada ženi starijoj od 70 godina. Slično je pokazano i u drugim studijama (Mej i sar., 2011). Rezultati ove studije su ukazali da kod neidentifikovanih osoba sa HFI merenje debljine kostiju lobanje ne bi bilo od koristi u određivanju starosti, a merenje debljine frontalne kosti ne bi koristilo u određivanju pola. Mnogi istraživači su pokušavali da utvrde da li bi debljina kostiju lobanje mogla da ukaže na pol i starost osobe, ali su rezultati bili kontradiktorni (Linerup i sar., 2005).

D. Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Cvetković D, Brković V, Nikolić S, Živković V. Hyperostosis frontalis interna as an age-related phenomenon – Differences between males and females and possible use in identification. *Sci Justice*. 2019; 59(2):172-176. doi: 10.1016/j.scijus.2018.09.005.

E. Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Hiperostoza frontalne kosti kod muškaraca: makro i mikro morfološke promene kostiju” kandidata dr Danice Cvetković, predstavlja originalni naučni doprinos u definisanju morfologije ovog fenomena kod muškaraca, od makroskopskog izgleda lobanje do mikroarhitekture frontalne kosti. Pregledom literature uočeno je da je ovo prva autopsijska studija u kojoj je ispitivan potencijalni uticaj hiperostoze frontalne kosti na mikroarhitekturu kosti na udaljenom mestu, odnosno van lobanje. Rezultati ovog istraživanja mogli bi doprineti boljem sagledavanju još uvek neutvrđene etiologije ovog fenomena.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Danice Cvetković i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

Članovi komisije:

Prof. dr Slobodan Nikolić

Prof. dr Danijela Đonić

Prof. dr Roger Byard

Mentor:

Prof. dr Vladimir Živković
