

**NASTAVNO NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici **Nastavno-naučnog veća** Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 30.06.2023. godine, broj 14/XV-3/3-MM, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Uticaj izbora protokola na tačnost trodimenzionalnih medicinskih modela, hirurških vodiča i koštanih zamenika (engl. *Influence of the choice of radiological protocols on the accuracy of three-dimensional medical models, surgical guides and bone replacement*)“

kandidata Milutina Mičića. Mentori su prof. dr Marija Đurić, Medicinski fakultet, Univerziteta u Beogradu i viši naučni saradnik Đorđe Antonijević, Stomatološki fakultet, Univerziteta u Beogradu.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. prof. dr Aleksandar Lešić, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, oblast: ortopedija,
2. prof. dr Petar Milovanović, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, oblast: biologija skeleta,
3. doc. dr Drago Jelovac, Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu, oblast: maksilofacijalna hirurgija,
4. doc. dr Dejan Četković, Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu, oblast: oralna hirurgija,
5. viši naučni saradnik dr Arso Vukićević, Fakultet inženjerskih nauka Univerziteta u Kragujevcu, oblast: tehničko tehnološke nauke – elektronika, telekomunikacije i informacione tehnologije.

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu sledeći

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije

Doktorska disertacija Milutina Mičića napisana je na engleskom jeziku, sadrži 73 strane i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 28 slika i 7 tabela. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i obavezne izjave.

U **uvodu** je opisana primena 3D štampe u biomedicini i rekonstrukciji skeleta, kao i karakteristike i vrste postojećih koštanih zamenika koji se koriste prilikom izrade koštanih skafolda. Savremena literatura na ove teme je prikazana na adekvatan način objašnjavajući tradicionalne tehnike za izradu koštanih skafolda, savremene metode tkivnog inženjeringa 3D štampom, kao i funkciju i izradu medicinskih modela i hirurških vodiča koji se koriste u hirurškoj rekonstrukciji koštanih defekata. Jasno je naglašen značaj prednosti virtuelnog planiranja hirurških intervencija i korišćenje koncepta *in house* 3D štampe. Pored prednosti, jasno su naznačeni i problemi upotrebe različitih radioloških protokola kao i softvera za izradu medicinskih modela, hirurških vodiča i skafolda u rekonstruktivnoj hirurgiji skeleta.

Ciljevi rada su jasno i precizno definisani. U prvoj fazi, cilj istraživanja je bio da se ispita preciznost različitih radioloških protokola (metodom multidetektorske kompjuterizovane tomografije [engl. *Multidetector Computed Tomography* – MDCT] i metodom kompjuterizovane tomografije konusnog snopa [engl. *Cone Beam Computed Tomography* – CBCT]) u 3D štampi medicinskih modela (MM) ljudske mandibule. U drugoj fazi, cilj istraživanja je bio da se, na animalnom modelu, primeni i testira koncept virtuelnog planiranja rekonstrukcije duge kosti 3D štampanim koštanim skafoldom uz primenu MM i hirurških vodiča (HV). U trećoj fazi, cilj istraživanja je bio da se koncept virtuelnog planiranja hirurgije i *in house* 3D štampe primeni u kliničkom okruženju na pacijentima sa velikim koštanim defektima donje vilice.

U poglavlju **materijal i metode** je jasno navedeno da je prva faza studije sprovedena u Centru za biologiju kosti Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, glavni deo druge faze studije u Centru za biologiju kosti Medicinskog fakulteta u Beogradu i Veterinarskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, dok je glavni deo treće faze istraživanja sproveden u Klinici za maksilofacijalnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu i Centru za biologiju kosti Medicinskog fakulteta u Beogradu. Studija je sprovedena u saglasnosti sa Vodičem Evropske Unije za studije na animalnim modelima (engl. *EU guidelines for animal model study procedures* - 86/609/EEC), Nacionalnim smernicama dobre laboratorijske prakse i principa nege laboratorijskih životinja, Helsinškom deklaracijom, uz odobrenje Etičkog komiteta Veterinarskog fakulteta Univerziteta u Beogradu (broj odobrenja 323-07-06340/2019-05/1, od 08.03.2016.), uz odobrenje Etičkog komiteta Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu (broj odobrenja 36/30, od 10.11.2021.), kao i Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu (broj odobrenja 1322/XII-5, od 30.12.2021.). Za sve tri faze istraživanja, adekvatno su opisani korišćeni materijali, radiološki uređaji i korišćeni radiološki protokoli, softveri za rekonstrukciju radiološke slike kao i softveri za transformaciju radioloških slika u virtualne 3D modele, prateća laboratorijska oprema i metodi za dobijanje i karakterizaciju materijala korišćenih za izradu koštanog skafolda, kao i oprema i metode korišćene za virtuelno planiranje i 3D štampu MM i HV.

Na kraju ovog poglavlja su date i osnovne informacije o korišćenoj statističkoj analizi dobijenih podataka.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati po fazama istraživanja.

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. Korišćena **literatura** sadrži spisak od 71 reference.

B) Provera originalnosti doktorske disertacije

Na osnovu Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu i nalaza u izveštaju iz programa *iThenticate* kojim je izvršena provera originalnosti doktorske disertacije „Uticaj izbora radioloških protokola na tačnost trodimenzionalnih medicinskih modela, hirurških vodiča i koštanih zamenika (engl. ” *Influence of the choice of radiological protocols on the accuracy of three-dimensional medical models, surgical guides and bone replacement*“ kandidata Milutina Mičića, je utvrđeno da podudaranje teksta iznosi 26%.

Najveći deo podudarnosti po rezultatima provere originalnosti doktorske disertacije (18%) je posledica prethodno publikovanih rezultata doktorandovih istraživanja (*Micic M, Antonijevic D, Milutinovic-Smiljanic S, Trisic D, Colovic B, Kosanovic D, Prokic B, Vasic J, Zivkovic S, Milasin J, Danilovic V, Djuric M, Jokanovic V. Developing a novel resorptive hydroxyapatite-based bone substitute for over-critical size defect reconstruction: physicochemical and biological characterization and proof of concept in segmental rabbit's ulna reconstruction. Biomed Tech (Berl). 2020 Aug 27;65(4):491-505. doi: 10.1515/bmt-2019-0218. Erratum in: Biomed Tech (Berl). 2022 Jun 28;67(4):331.*) koji su proistekli iz ove doktorske disertacije i koji su u njoj citirani, što je u skladu sa članom 9 Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu, a naročito budući da su i disertacija i publikovani rezultati pisani engleskim jezikom. Najveći broj podudarnosti sa navedenim istraživanjem proistekao je iz imena institucija (kao: *Institute for Virology, Vaccine and Sera “Torlak”, University of Belgrade*), naziva metoda ili materijala korišćenih u radu (kao: *Microstructural assessment and wettability determination* ili *A New Zealand white adult rabbit*), naziva opreme korišćene u radu (kao: *confocal microscope (Laser Scanning Microscope, LSM META 510, Carl Zeiss, Dublin, CA, USA)*), naziva korišćenih hemikalija i reagensa (kao: *Gibco Dulbecco's modified Eagle's F12 medium (D-MEM/F12; Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA), supplemented with 20% FBS (Thermo Fisher Scientific, Inc.) and 1% antibiotic/antimycotic (ABAM; Thermo Fisher Scientific, Inc.) solution* ili *growth medium*

supplemented with 10 nm dexamethasone disodium phosphate, 1.8 mm monopotassium phosphate (KH₂PO₄), 10 mm b-glycerophosphate and 50 µg/ml vitamin C (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)), naziva softvera sa specifičnim podešavanjima (kao: NRecon v.1.6.9.8 software (Skyscan-Bruker) with beam hardening correction of 45%, ring artefact correction of 6%, postalignment of -1, and smoothing of 4), kao i samih metoda i rezultata istraživanja.

U samom tekstu doktorske disertacije su jasno navedeni svi radovi kandidata u kojima su objavljeni delovi ove disertacije, tj. radovi proistekli iz disertacije su jasno citirani u samoj doktorskoj disertaciji, što je u skladu sa Pravilnikom o sticanju zvanja doktor medicinskih nauka na Medicinskom fakultetu u Beogradu i u skladu sa pravilima izdavača časopisa u kojima su ovi radovi publikovani.

Preostalih 8% podudarnosti teksta su prevashodno posledica toga što softver prepoznaje određene fraze, kao što su nazivi klinika (kao: *Clinic for Maxillofacial Surgery at the Faculty of Dentistry, University of Belgrade*), opreme (kao: *light microscope (Leitz Labor Lux S Fluorescence Microscope, Ernst Leitz Wetzlar GMBH, Germany)*), nazivi i opisi statističkih testova (kao: *one-way analysis of variance (ANOVA) was used to compare ili independent samples t-test was used*), nazivi kompleksnih morfoloških ili drugih tehničkih parametara koji se koriste u istraživanjima, sastav često korišćenih rastvora i hemikalija; postoji i preklapanje opštih mesta i podataka kao i slučajna preklapanja, što je sve u skladu sa članom 9. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu.

Na osnovu svega iznetog, a u skladu sa članom 8. stav 2. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu, smatramo da je ova doktorska disertacija originalna.

C) Kratak opis postignutih rezultata

U prvoj fazi istraživanja utvrđeno je da radiološki protokoli CBCT0.25, CBCT0.35 i Dental 2.0 H60s daju najpreciznije MM ljudske mandibule. Utvrđena je zadovoljavajuća sličnost u preciznosti MM postignutim navedenim protokolima, što je rezultat koji je visoko primenjiv u rekonstruktivnoj hirurgiji velikih koštanih defekta donje vilice, kada je potrebno virtuelno planiranje sa izradom MM-a i HV-a za rekonstruktivnu hirurgiju autograftom.

U drugoj fazi istraživanja, rezultati utvrđeni u prvoj fazi istraživanja uspešno su primenjeni na životinjskom modelu, za indukciju i rekonstrukciju nadkritičnog defekta duge kosti (1/4 zečije ulne zamenjena je 3D štampanim koštanim graftom) uz praktičnu primenu virtuelnog planiranja kao i implementaciju MM-a i HV-a tokom rekonstruktivne hirurgije. Ovde je postignuta uspešna rekonstrukcija nadkritičnog defekta duge kosti koja je izložena opterećenju bez upotrebe spoljašnje fiksacije, koštanih morfogenih proteina, faktora rasta ili matičnih ćelija. Da bi postigli ove rezultate korišćen je inovativni materijal za izradu koštanog zamenika (nHAP/PLGA) i specifični dizajn 3D

printera, namenski napravljen u svrhu 3D štampe koštanog zamenika u Centru za biologiju kosti, Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

U trećoj fazi istraživanja, uspešno su primenjeni rezultati i iskustvo iz prve i druge faze istraživanja koji su podrazumevali primenu 3D štampe u hirurškom lečenju sedam pacijenata sa velikim koštanim defektima donje vilice na Klinici za maksilofacijalnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu (eksperimentalna grupa). Rezultati lečenja eksperimentalne grupe su poređeni sa kontrolnom grupom koju je činilo pet pacijenata sa velikim koštanim defektima donje vilice koji su lečeni uobičajenim hirurškim metodom bez primene 3D štampe. Statistički značajno poboljšanje je utvrđeno u eksperimentalnoj grupi pacijenata u vremenu hospitalizacije (manji broj bolničkih dana), u finalnom funkcionalnom i estetskom rezultatu hirurgije, kao i u zadovoljstvu pacijenta lečenjem.

D) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Iako su postojali naučni radovi koji su se bavili preciznošću MM-a, izrađenih uz pomoć različitih tehnologija 3D štampe (Ballard i sar. 2018; Eltes i sar. 2020; Whyms i sar. 2013), nedostajala su istraživanja uticaja različitih radioloških protokola i različitih tehnologija radioloških skenera na geometrijsku tačnost 3D štampanih MM u poređenju sa fizičkim objektom medicinskog skeniranja. Takođe, postojala je potreba za detaljnim poređenjem volumetrijskih mera CT i CBCT volumenskih rekonstrukcija i 3D modela nastalih na osnovu radioloških skenova (Troy i Edwards 2018). Takođe, prema saznanju autora, u savremenoj literaturi nedostaje analiza preciznosti volumenske rekonstrukcije u odnosu na objekat skeniranja ili analiza preciznosti MM u odnosu na radiološki sken na osnovu koga je odštampan 3D model. Takođe, prethodne publikacije nisu uzimale u obzir dimenzionu kontrakciju 3D modela dobijenog od radiološke volumenske rekonstrukcije po osama Kartezijanskog koordinatnog sistema, niti su primetile grupisanje bilo precenjivanja ili potcenjivanja mera po osama koordinatnog sistema, niti dale određene preporuke za korekcije 3D modela po osama koordinatnog sistema u cilju dobijanja preciznijih MM-a (Vani i Prasad 2017, Periago i sar. 2008, Waltrick i sar. 2013, Baumgaertel i sar. 2009). Najvažniji rezultat prvog dela istraživanja jeste definisanje MDCT radiološkog protokola (Dental 2.0 H60s) koji se po preciznosti rezultujećeg 3D modela i MM-a statistički ne razlikuje od CBCT protokola. Klinički značaj ovog rezultata je jasan ako se razmotri njegova upotreba u slučaju rekonstrukcije velikih koštanih defekata autograftom, gde je donorska regija obično fibula (alternativno kost karlice, ili lopatice) koja se standardno skenira MDCT metodom. Iako je poznato da je CBCT metoda izbora za radiološko skeniranje mandibularne regije (Vani i Prasad 2017), s obzirom na činjenicu da se donorska regija ne može skenirati komercijalno dostupnim CBCT uređajem, već MDCT ili sličnim uređajem, nije bilo poznato koji radiološki MDCT protokol može dati istu ili uporedivu metričku preciznost MM-a kako donorske regije tako i neomandibule i biti osnov za adekvatno virtuelno planiranje hirurškog zahvata koji bi dao najveću moguću preciznost prilikom rekonstrukcije velikog koštanog defekta mandibule.

Dizajniranje koštanog 3D konstrukta od inovativnog materijala (nHAP/PLGA) (Jokanovic i sar. 2017) urađeno je u skladu sa predhodnim smernicama i preporukama da bi se postigla adekvatna poroznost i veličina pora kao i superhidrofilnost (Cao i sar. 2015, Fernandez-Yague i sar. 2015, Komlev i sar. 2015, Wen i sar. 2017). Za preoperativno radiološko skeniranje eksperimentalne životinje i virtuelno planiranje indukcije i rekonstrukcije koštanog defekta na eksperimentalnoj životinji korišćen je radiološki protokol CBCT0.35, 3D Slicer softver, kao i metode i tehnike za izradu MM-a i HV-a utvrđene u prvoj fazi istraživanja. Dodatno, dizajniran je i na namenski napravljenom 3D štampaču odštampan konstrukt planirane poroznosti i povezanosti pora, sa nastavcima koji osiguravaju primarnu stabilnost grafta. Zahvaljujući dizajniranju željene poroznosti i inovativnim karakteristikama nHAP/PLGA konstrukta sa optimalnom brzinom degradacije i resorpcije grafta koje je sinhronizovana sa koštanim remodelovanjem na mestu defekta, ovo istraživanje uspešno je prevazišlo teškoće postizanja adekvatne vaskularizacije i remodelinga u centralnom delu koštanog defekta (Oryan i sar. 2016, Yang i sar. 2014, Fassbender i sar. 2014, Xu i sar. 2012, Yang C. i sar. 2018, Sohn i Oh 2019). Za razliku od predhodnih istraživanja, prvi put je rekonstruisana duga kost (1/4 kosti) izložena opterećenju, bez upotrebe spoljašnje fiksacije, zasejavanja matičnih ćelija, koštanih morfogenih faktora i korišćenja bioreaktora (Hettwer i sar. 2019, Zhang H. i sar. 2017, Temple i sar. 2014, Nezhurina i sar. 2018).

Prilikom implementacije principa utvrđenih u predhodnim fazama istraživanja, virtuelnog planiranja i izrade MM i HV u rekonstrukciji velikih koštanih defekata donje vilice na Klinici za maksilofacijalnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, postignuta su značajna poboljšanja u eksperimentalnoj grupi pacijenata, i to u vremenu hospitalizacije, finalnom funkcionalnom i estetskom rezultatu hirurgije, kao i zadovoljstvu pacijenata lečenjem. Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima prethodnih istraživanja (Martelli i sar. 2016, Tarsitano i sar. 2016, Gil i sar. 2015, Serrano i sar. 2019) s tim što se ovo istraživanje razlikuje po nekoliko važnih osnova. Iako je primenjen tradicionalni metod poređenja linearnih mera iz dve perspektive za ocenu funkcionalnog i estetskog rezultata hirurgije (Tarsitano i sar. 2016, Serrano i sar. 2019), primenjen je i volumetrijski metod ocene ovih rezultata koji je pouzdaniji, ne zavisi od perspektive i preciznije izražava funkcionalni i estetski rezultat hirurškog zahvata. Pored toga, ovo je prvo istraživanje ovog tipa u Srbiji i istraživanje koje je istaklo značaj primene koncepta *in house* 3D štampe. U dosadašnjim istraživanjima na ovu temu nije bilo dovoljno podataka o vremenu potrebnom za potpunu preoperativnu pripremu vođene hirurgije, virtuelnog planiranja i izrade MM-a i HV-a (Yuan 2016, Tarsitano i sar. 2016). Retka istraživanja koja su razmatrala ovaj podatak (Martelli i sar. 2016) pokazuju da je potrebno čak i do dve nedelje preoperativne pripreme. U situacijama kada pacient zbog velikog koštanog defekta donje vilice zahteva brzo hirurško zbrinjavanje, kandidat sa pravom navodi da bi ovako dugačak period preoperativne pripreme mogao da ugrozi lečenje, što je osnovni razlog za priemenu koncepta *in house* 3D štampe i blisku saradnju hirurga sa bioinženjerima koji timski vrše virtuelno planiranje i dizajn MM-a i HV-a, što skraćuje preoperativnu pripremu na vremenski okvir ispod četiri dana.

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

1. Micic M, Antonijevic D, Milutinovic-Smiljanic S, Trisic D, Colovic B, Kosanovic D, Prokic B, Vasic J, Zivkovic S, Milasin J, Danilovic V, Djuric M, Jokanovic V. (2020) Developing a novel resorptive hydroxyapatite-based bone substitute for over-critical size defect reconstruction: physicochemical and biological characterization and proof of concept in segmental rabbit's ulna reconstruction. *Biomed Tech (Berl)*. 27;65(4):491-505. doi: 10.1515/bmt-2019-0218. (IF=1.411, M23)
2. Micic M, Jadzic J, Milenkovic P, Antic S, Antonijevic D, Djuric M. (2023) Testing of Different Scanning Protocols Used for Precise 3D-printing of Mandibular Models. *J Craniofac Surg*. Published ahead of print on May 25 2023. doi: 10.1097/SCS.00000000000009421. (IF=1.172, M23)
3. Micic M, Djuric M. (2023) Acelularna 3d štampa u hirurškoj rekonstrukciji koštanih defekata. *Medicinski Podmladak*. Vol. 74 Br.3. doi: 10.5937/mp74-43883, (IF=/, M52)

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Uticaj izbora radioloških protokola na tačnost trodimenzionalnih medicinskih modela, hirurških vodiča i koštanih zamenika (engl. *Influence of the choice of radiological protocols on the accuracy of three-dimensional medical models, surgical guides and bone replacement*)“ kandidata Milutina Mičića predstavlja pionirsku implementaciju 3D štampe u hirurškoj rekonstrukciji velikih koštanih defekata u Srbiji. Pored toga, ova doktorska disertacija je definisala optimalne radiološke protokole za izradu MM-a i HV-a za hiruršku rekonstrukciju velikih koštanih defekata donje vilice, ali i dala preporuke za korekcije 3D modela dobijenih najčešće korišćenim radiološkim protokolima za skeniranje regija od interesa prilikom ovih procedura. U okviru ove disertacije, dizajniran je i fabrikovan namenski 3D štampač, uz pomoć koga je izrađen personalizovani koštanih skafold od inovativnog materijala (nHAP/PLGA) koji je potom ispitan i uspešno primenjen za rekonstrukciju nadkritičnog koštanog defekta zečije ulne. Ovo je bila uspešna rekonstrukcija nadkritičnog defekta kosti koja trpi opterećenje, bez korišćenja spoljašnje fiksacije, morfogenih proteina kosti, matičnih ćelija ili bioreaktora. Takođe, u ovoj disertaciji je po prvi put u Srbiji uspešno primenjen koncept *in house* 3D štampe i virtuelnog planiranja u kliničkom okruženju. Ovaj koncept je uspešno primenjen u lečenju pacijenata sa velikim koštanim defektima donje vilice, što je značajno poboljšalo ishod hirurškog lečenja.

U Beogradu, 27.06.2023.

Članovi Komisije:

prof. dr Aleksandar Lešić

prof. dr Petar Milovanović

doc. dr Drago Jelovac

doc. dr Dejan Četković

viši naučni saradnik dr Arso Vukićević

Mentori:

prof. dr Marija Đurić

viši naučni saradnik dr Đorđe Antonijević