

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Goran J. Đuričić

ZNAČAJ MULTIFRAKTALNE ANALIZE  
SNIMAKA MAGNETNE REZONANCE  
U PROCENI ODGOVORA  
NA HEMIOTERAPIJU KOD  
PRIMARNIH KOŠTANIH NEOPLAZMI

doktorska disertacija

Beograd, 2018

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Goran J. Đuričić

IMPORTANCE OF MULTIFRACTAL  
ANALYSIS OF MAGNETIC RESONANCE  
IMAGING IN ASSESSMENT OF  
RESPONSES TO CHEMOTHERAPY IN  
PRIMARY BONE NEOPLASMS

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018

**MENTOR: Prof. dr Jelena Sopta,**

vanredni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

**KOMENTOR: Prof. dr Marina Nikitović**

vanredni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

**ČLANOVI KOMISIJE:**

**Prof. dr Goran Tulić,**

vanredni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

**Prof. dr Zorica Milošević,**

vanredni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

**Prof. dr Milana Panjković,**

vanredni profesor Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu

DATUM ODBRANE: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## ZAHVALNICA

Najveću zahvalnost dugujem svom mentoru prof. dr Jeleni Sopti na ukazanom poverenju i podršci u toku izrade doktorske disertacije.

Srdačno zahvaljujem svom komentoru prof. dr Marini Nikitović na svesrdnoj podršci u svim fazama izrade ove disertacije.

Prof. Jeleni Vasiljević zahvaljujem na ideji za uvođenje multifraktalne analize snimaka magnetne rezonance.

Posebno zahvaljujem naučnom savetniku Marku Raduloviću na njegovom angažovanju u ključnim trenucima izrade ove disertacije, pomoći i savetima prilikom donošenja odluke u vezi optimizacije slika i uvođenjem korekcionog faktora i *macroa* unutar ImageJ softvera u pretprocesnoj fazi analize, kao i usmeravanju ka donošenju relevantnih zaključaka.

Takođe bih želeo da se zahvalim na podršci i pomoći tokom analize i komparacije slika prof. Nebojši Miloševiću koji je svojim ekspertskim pristupom proširio domet ovog rada i dao ideju za dalje komparabilne metode analize medicinskih slika.

Zahvaljujem se svim kolegama članovima Nacionalnog „Sarkoma“, konzilijumasa sa Instituta za ortopedsko hiruške bolesti „Banjica“, kao i Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije koji su svojim aktivnim učešćem pomogli izradu ove disertacije.

Zahvalnost na pomoći tokom uvoda u formiranje baze slika za analizu dugujem i kolegici dr Nataši Milčanović iz Univerzitetske dečje klinike u Beogradu.

Dugujem zahvalnost i svim ostalim kolegama iz Univerzitetske dečje klinike koji su svojom podrškom doprineli izradu ove doktorske disertacije.

Najveću zaslugu za ono što sam postigao pripisujem svojim roditeljima Jovanu i Danici kao i svojoj porodici supruzi dr Mirjani Đuričić, Veljku i Anđeli koji su bili tu uz mene, bez obzira da li se radilo o teškim, naizgled bezizlaznim situacijama ili srećnim trenucima i bez čije podrške i razumevanja sve ovo što sam dosad postigao ne bi bilo moguće.

# ZNAČAJ MULTIFRAKTALNE ANALIZE SNIMAKA MAGNETNE REZONANCE U PROCENI ODGOVORA NA HEMIOTERAPIJU KOD PRIMARNIH KOŠTANIH NEOPLAZMI

## SAŽETAK

**Uvod:** Osteosarcom je najučestaliji primarni maligni koštani tumor, Ewing sarkom je drugi po učestalosti u populaciji mlađoj od dvadeset godina. Iako se kombinovanom terapijom u njihovom lečenju značajno povećao procenat preživljavanja kod lokalizovanih formi oboljenja i dalje najveći problem predstavlja rezistencija na hemioterapiju primarnih koštanih tumora. Otuda bi što ranija procena terapijskog odgovora bila od neprocenjivog značaja u izboru terapijskog pristupa. Patohistološki *grading* sistem koji se definiše nakon radikalne hirurške intervencije posle sprovedene indukciono terapije i dalje je „zlatni standard“ u proceni terapijskog odgovora u odnosu na radiološke vizuelizacione tehnike. Uvođenje i primena metoda digitalne obrade slike u pre i postterapijskoj analizi MR snimaka primarnih koštanih tumora, koja se zasniva na matematičkim modelima, mogla bi da ubrza, objektivizuje i olakša svakodnevni dijagnostički postupak.

**Cilj:** Cilj ove studije bila je procena parametara multifraktalne analize snimaka magnetne rezonance osteosarcoma i Ewing sarcoma u predikciji odgovora na terapiju kako inicijalno pre sprovedene hemioterapije, tako i nakon nje, kao i njihove razlike. Takođe i korelacija dobijenih parametara sa patohistološkom dijagnozom stepena tumorske nekroze po Huvos grading sistemu u cilju procene značaja multifraktalne analize u predikciji hemioterapijskog odgovora.

**Metodologija:** Studijom preseka u petogodišnjem periodu (2010-2014) obuhvaćeno je 88 pacijenata sa osteosarkomom i Ewing sarkomom na dugim cevastim kostima kod kojih je bila moguća naknadna precizna obrada MRI snimaka pre i nakon sprovedene indukciono hemioterapije. MR snimci su prevedeni u digitalnu sliku rezolucije 1400 x 1054 pixela sive skale, a naknadnom upotrebom *crop tool*-a, tj isecanjem delova slike izdvajan je *regions of interest* (ROIs) u skladu sa granicama svakog pojedinačnog tumora.

U daljoj pripremi slike izvršena je transformacija svih fajlova u *8-bit greyscale format* 1056 (1GBe) slika, a nakon toga prevođenje crnih pozadinskih piksela u bele 1056 (2GWe) slika. Zatim su formirane 1056 binarne (3BWe) slike i 1056 inverznih binarnih slika (4BBe). Celokupnim postupkom analize dobijenih digitalnih slika oformljena je baza od 4224 slike. Analizom multifraktalnih parametara uočena je potreba za uvođenjem korekcije za različitu površinu tumora, čime je formirano 1056 kvocijenta 2GWe/1GBe slika. U završnoj fazi izračunavanja dvanaest multifraktalnih parametara korišćene je 1056 2GW slika i 1056 kvocijenta 2GW/1GBe slika, ukupno 2112 slika. Rezultati su dovođeni u korelaciju sa stepenom tumorske nekroze po Huvos gradusu, tj *good responders* ( $\geq 90\%$ ) i *poor responders* ( $<90\%$ .)

**Rezultati:** Analizom dvanaest parametara multifraktalne analize na inicijalnim 2GWe/1GBe slikama,  $\alpha$  koji odgovara  $f(\alpha)_{\max}$ , pokazalo je statistički značajnu, ali slabu moć diskriminacije dobrog i lošeg odgovora na terapiju. Poređenjem razlike parametara pre i posle terapije 2GW/1GBe slika, jedini fraktalni parametar koji se izdvojio kao značajan je  $\Delta\alpha$  (OR = 1,93; 95%CI = 3,67 – 35,44; p = 0,021). Svako povećanje razlike u vrednostima ovog parametra pre i posle terapije povećava verovatnoću nastanka lošeg odgovora na terapiju 1,93 puta. Analizom oba tipa snimaka (2GWe/1GBe i 2GWe) utvrđena je visoko statistički značajna, direktna pozitivna korelacija pada vrednosti parametra  $f(\alpha)_{\min}$  sa lošim terapijskim odgovorom.

**Zaključci:** Rezultati multifraktalne analize digitalnih MR slika sugerišu da je neophodno precizno definisanje kriterijuma za predikciju i prognozu hemioterapijskog odgovora. Fraktalne vrednosti koje bi trebalo obavezno uvrstiti u algoritam za predikciju terapijskog odgovora su  $f(\alpha)_{\max}$ ,  $\Delta\alpha$  i  $f(\alpha)_{\min}$  za snimke kvocijenta 2GW/1GBe i  $f(\alpha)_{\min}$  za snimke 2GW dok su ostale fraktalne veličine opciono deo algoritma. Njihova eventualna potvrda značajno bi olakšala dileme u terapijskom pristupu primarnih koštanih sarkoma.

**Ključne reči:** Koštane neoplazme, Osteosarcoma, Ewing sarcoma, magnetna rezonanca, hemioterapija, fraktali, multifraktali, analiza slike.

**Naučna oblast:** Medicina

**Uža naučna oblast:** Radiologija

# IMPORTANCE OF MULTIFRACTAL ANALYSIS OF MAGNETIC RESONANCE IMAGING IN ASSESSMENT OF RESPONSES TO CHEMOTHERAPY IN PRIMARY BONE NEOPLASMS

## SUMMARY

**Introduction:** Osteosarcoma is the most frequent primary malignant bone tumour while Ewing sarcoma is the second one judging by its incidence in the population below twenty years of age. Although the combined therapy in their treatment has significantly increased the percentage of survivals in localized forms of the diseases, the resistance of primary bone tumours to chemotherapy still poses the biggest problem. Hence as early assessment of a therapy response as possible would be of invaluable importance in the selection of the therapy approach. The pathohistological *grading* system that is defined after a radical surgery intervention after the employed induction therapy is still the ‘golden standard’ in the assessment of therapy response as compared to radiological visualization techniques. Introduction and application of the method of digital image processing in the pre- and post-therapy analysis of MRIs of primary bone tumours, which is based on mathematical models, could speed up, objectify, and facilitate the everyday diagnostic procedure.

**Objective:** The goal of this study was assessment of parameters of multifractal analysis of magnetic resonance imaging of osteosarcoma and Ewing sarcoma in the prediction of responses to therapy both initially prior to employing chemotherapy, and after it, as well as of their differences. Also the correlation between the obtained parameters and the pathohistological diagnosis of the degree of necrosis in tumours according to the Huvos grading system for the purpose of assessment of the importance of the multifractal analysis in the prediction of the chemotherapy response.

**Methodology:** The cross-sectional study in the five year period (2010-2014) covered 88 patients suffering from osteosarcoma and Ewing sarcoma on long tubular bones, in which cases it was possible to subsequently precisely process MRIs prior to and after employing the induction chemotherapy. MRIs were converted into digital images of the resolution of 1400 x 1054 grayscale pixels and, by subsequent use of a *crop tool*, i.e. by cutting out

parts of an image, *regions of interest* (ROIs) were singled out in line with the borders of each individual tumour. In further preparation of an image, all the files were converted into 1056 (1GBe) 8-bit *greyscale* images and, after that, black background pixels were converted into white 1056 (2GWe) images. Then, 1056 binary (3BWe) images and 1056 inverse binary images (4BBE) were formed. By the entire procedure of the analysis of the obtained digital images, the database of 4224 images was formed. By the analysis of multifractal parameters, the need was identified for the introduction of a correction for different tumour surfaces, whereby 1056 quotient 2GWe/1GBe images were formed. In the final phase of calculation of twelve multifractal parameters, 1056 2GW images and 1056 quotient 2GW/1GBe images were used, a total of 2112 images. The results were correlated with the degree of tumour necrosis according to the Huvos grading system, i.e. *good responders* ( $\geq 90\%$ ) and *poor responders* ( $<90\%$ ).

**Results:** The analysis of twelve parameters of multifractal analysis on the initial 2GWe/1GBe images,  $\alpha$ , which corresponds to  $f(\alpha)_{\max}$ , appeared to have statistically significant, but poor power to discriminate between good and poor response to therapy. By comparing the difference in the parameters of 2GW/1GBe images prior to and after a therapy, the only fractal parameter that was identified as significant is  $\Delta\alpha$  (OR = 1.93; 95% CI = 3.67 – 35.44;  $p = 0.021$ ). Every increase in the difference in the values of this parameter prior to and after a therapy increases the probability of occurrence of a poor response to therapy 1.93 times. The analysis of both types of images (2GWe/1GBe and 2GW) established a highly statistically significant, direct positive correlation between the drop in the value of the parameter  $f(\alpha)_{\min}$  and a poor therapy response.

**Conclusions:** The results of multifractal analysis of digital MRIs suggest that it is necessary to precisely define the criteria for the prediction and prognosis of a chemotherapy response. Fractal values that should be obligatorily incorporated in the algorithm for the prediction of therapy response are  $f(\alpha)_{\max}$ ,  $\Delta\alpha$ , and  $f(\alpha)_{\min}$  for quotient 2GW/1GBe images and  $f(\alpha)_{\min}$  for 2GW images while other fractal values are optional parts of the algorithm. Their possible confirmation would significantly facilitate the resolution of the dilemmas in the therapy approach to primary bone sarcomas.



**Keywords:** Bone neoplasm, Osteosarcoma, Ewing sarcoma, Magnetic resonance imaging, chemotherapy, fractals, multifractals, image analysis.

**Scientific area:** Medicine.

**Specific scientific area:** Radiology.

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Histološka klasifikacija tumora koštanog porekla.....	2
1.1.1 Osteosarcoma.....	4
1.1.2. Ewing sarcoma.....	4
1.2 Epidemiologija.....	4
1.2.1 Incidenca osteosarcoma.....	5
Uzrast.....	5
Pol.....	5
Lokalizacija tumora.....	5
1.2.2 Incidenca Ewing sarcoma.....	6
Uzrast.....	6
Pol.....	6
Lokalizacija tumora.....	6
1.3 Dijagnoza.....	6
1.3.1 Anamneza.....	7
1.3.2 Klinička slika.....	7
1.3.3 Fizikalni pregled.....	8
1.3.4 Laboratorijske analize.....	9
1.3.5 Radiološke dijagnostičke procedure.....	9
Radiografija.....	10
Magnetic resonance imaging (MRI).....	10
Computed tomography (CT).....	11
1.3.6 Biopsija.....	11

1.3.7	Stadiranje -procena stepena proširenosti bolesti.....	13
1.4	Diferencijalna dijagnoza.....	14
1.5	Terapija.....	15
	Osteosarkom.....	15
	Ewing - ov sarkom.....	16
1.6	Procena tumorskog odgovora na hemioterapiju.....	17
1.6.1	Patohistološka procena.....	17
1.6.2	Radiološka procena.....	18
1.7	Praćenje ( <i>Follow – up</i> ).....	18
1.8	Primena fraktalne i multifraktalne analize.....	19
1.8.1	Fraktalna geometrija.....	19
	a) Nemaju karakterističnu dužinu.....	21
	b) Poseduju osobinu samosličnosti.....	21
	c) Imaju necelobrojnu dimenziju.....	22
1.8.2	Procena fraktalne dimenzije.....	23
1.8.3	Multifraktali.....	27
1.8.4	Multifraktalna analiza slika.....	34
1.8.5	Fraktalna morfometrija primenjena na biološke sisteme.....	36
1.8.6	Program ImageJ.....	43
1.8.7	Program "FracLac".....	44
<b>2.</b>	<b>CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>49</b>
<b>3.</b>	<b>METODOLOGIJA.....</b>	<b>51</b>
	Statistička analiza podataka.....	58

<b>4.REZULTATI.....</b>	<b>60</b>
4.1. Deskripcija populacije.....	61
4.1.1. Socio-demografske karakteristike pacijenata.....	61
4.1.2. Karakteristike vezane za tip i lokalizaciju sarcoma.....	61
4.1.3 Klinička manifestacija i stadijum bolesti.....	63
4.2. Odgovor na terapiju.....	65
4.3. Prognostička vrednost parametara slika u predikciji odgovora na terapiju.....	67
4.4. Nezavisni prediktori lošeg terapijskog odgovora.....	72
4.4.1. Klinički prediktori lošeg odgovora na terapiju.....	72
4.4.2. Parametri slika pre terapije kao nezavisni prediktori lošeg odgovora na terapiju.....	73
4.5. Parametri slika pre i posle terapij.....	75
4.5.1. Parametri slika pre i posle terapije u odnosu na odgovor na terapiju.....	76
4.5.2. Parametri slika pre i posle terapije u odnosu na sektor skeleta.....	82
4.5.3. Parametri slika pre i posle terapije u odnosu na tip sarcoma.....	86
4.5.4. Parametri snimaka pre i posle terapije kao prediktori lošeg terapijskog odgovora...90	
<b>5.DISKUSIJA.....</b>	<b>93</b>
<b>6.ZAKLJUČCI.....</b>	<b>105</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>107</b>

## **1.UVOD**

## 1.1. Histološka klasifikacija tumora koštanog porekla

Trenutno aktuelna klasifikacija koštanih tumora je histološka klasifikacija, data od strane Svetske zdravstvene organizacije (SZO) iz 2013. godine. Po ovoj klasifikaciji, svi tumori kosti se dele na hondrogene, osteogene, fibrogene, fibrohistiocitne tumore, hematopoetske neoplazme, osteoklastične gigantocelularne tumore, notohordalne, vaskularne, miogene, lipogene tumore, tumore nedefinisane neoplastične prirode i mešovite tumore. Svaka od ovih grupa koštanih tumora se dalje deli na podgrupe benignih i malignih tumora, a u okviru kojih se izdvajaju različiti tipovi tumora.

Benigni hondrogeni tumori obuhvataju osteohondrom, hondrom (enhondrom, periostalni hondrom), osteohondromksom, subungvalnu egzostoza, bizarnu parostealnu osteohondromatoznu proliferaciju i sinovijalnu hondromatozu. Intermedijarni hondrogeni tumori su ili lokalno agresivni tumori, koje čine hondromiksoidni fibrom i atipični kartilaginozni tumor, odnosno hondrosarkom gradus I ili retko metastazirajući tumori, kao što je hondroblastom. U grupu malignih hondrogenih tumora spadaju hondrosarkom gradusa II i III, dediferentovani hondrosarkom, mezenhimalni hondrosarkom I "clear cell" hondrosarkom.

Benigne osteogene tumore čine osteom i osteoid osteoma. Intermedijarni, lokalno agresivni, osteogeni tumor je osteoblastom, dok grupi malignih pripadaju različiti tipovi osteosarkoma.

Od fibrogenih tumora, izdvajaju se intermedijarni, lokalno agresivni, tumor - dezmoplastični fibrom kosti, kao i maligni tumor - fibrosarkom kosti.

U grupu fibrohistiocitnih tumora spada benigni fibrozni histiocitom / neosificirajući fibrom.

Od hematopoetskih neoplazmi, ovom klasifikacijom su obuhvaćeni maligni oblici tumora, i to: plazmaćelijski mijelom, solitarni plazmacitom kosti i primarni non-Hodgkin limfom kosti.

Osteoklastični gigantocelularni tumori mogu biti benigni (gigantocelularna lezija malih kostiju), intermedijarni, i to lokalno agresivni ili retko metastazirajući (gigantocelularni tumor kosti), kao i maligni (maligni gigantocelularni tumor kosti).

U notohordalne tumore se ubrajaju benigni notohordalni tumor, kao benigna varijanta, i hordom, kao maligna varijanta ove grupe tumora.

Vaskularni tumori mogu biti benigni, i ovoj grupi pripada hemangiom, intermedijarni (lokalno agresivni, retko metastazirajući) u koje spada epiteloidni hemangiom, kao i maligni, koji obuhvataju epiteloidni hemangioendoteliom i angiosarkom.

Benigni miogeni tumor jeste leiomiom kosti, dok je maligni miogeni tumor leiomiosarkom kosti.

Lipogeni tumori su lipom, kao benigni, i liposarkom, kao maligni oblik bolesti.

Postoji i grupa tumora nedefinisane neoplastične prirode, koji mogu biti benigni i intermedijarni, lokalno agresivni. U benigne forme bolesti spadaju: prosta koštana cista, fibrozna displazija, osteofibrozna displazija, hondromezenhimalni hamartom i Rosai-Dorfman-ova bolest, dok u intermedijarni oblik bolesti spadaju: aneurizmalna koštana cista, histiocitoza Langerhansovih ćelija (monostotska ili poliohistotska), kao i Erdheim-Chester-ova bolest.

Mešoviti koštani tumori su Ewing-ov sarkom, adamantinom, nediferentovani visokogradusni pleomorfni sarkom kosti (1).

### **1.1.1. Osteosarcoma**

*Osteosarcoma* (OSA) je maligni tumor vezivnog tkiva, koji produkuje osteoidni matriks i varijabilne količine hrskavičavog matriksa i vezivnog tkiva (2). Po sadašnjoj klasifikaciji, postoji deset različitih kategorija osteosarkoma: niskogradusni centralni osteosarkom, konvencionalni osteosarkom (hondroblastični, fibroblastični i osteoblastični osteosarkom), telangiektatični, sitnoćelijski, sekundarni, parostalni, periostalni, kao i visokogradusni površni osteosarkom (1). Sekundarni osteosarkom može nastati postradijaciono, kao i na terenu Paget-ove bolesti ili nekih drugih stanja (fibrozne displazije, koštanog infarkta, hroničnog osteomijelitisa, itd.), obično kod pacijenata starije životne dobi (3, 4).

### **1.1.2. Ewing sarcoma**

Familija tumora *Ewing sarcoma* (ESA) je grupa visoko agresivnih, loše diferenciranih malignih tumora malih, okruglih, plavih ćelija, za koje se smatra da vode poreklo od ćelija neuralnog grebena. Ova familija tumora obuhvata Ewing-ov sarkom kosti, ekstraosealni Ewing-ov sarkom, Askin tumor torakalnog zida i periferni primitivni neuroektodermalni tumor (PNET) (5,6). Za ovu grupu tumora, uobičajena je hromozomska translokacija t[11;22] [q24;q12], čiji je rezultat fuzija EWS gena i FLI1 gena (6-8).

## **1.2. Epidemiologija**

Primarni maligni koštani tumori su retki i čine manje od 1% svih malignih tumora. Mnogo češće se javljaju kod muškaraca, naročito kod dece i tokom adolescencije. Neke vrste primarnih malignih koštanih tumora se mogu javiti i kod pacijenata starosne dobi od 35. do 60. godine života. Iz ove grupe tumora najčešći su *osteosarcoma*, *Ewing sarcoma* i *chondrosarcoma* (9). Različiti tumori imaju različitu incidencu. Osteosarkom i Ewing-ov sarkom (ES) imaju relativno visoku incidencu u 2. deceniji života, dok su hondrosarkomi mnogo češći u starijoj životnoj dobi (10).



### **1.2.1. Incidenca osteosarkoma**

#### **Uzrast.**

Osteosarkom je najčešći primarni maligni koštani tumor, sa incidencom od 0,2 do 0,3 slučaja godišnje, na 100 000 stanovnika (11). Osteosarkom se retko dijagnostikuje pre pete godine života, ali njegova incidenca raste sa godinama života, sve do oko perioda puberteta (12-17). Incidenca javljanja ovog tumora kod adolescenata, u uzrastu od 15. do 19. godine života, iznosi 0,8 do 1,1 slučaj godišnje, na 100 000 stanovnika. U ovoj populacionoj grupi čini više od 10% svih solidnih malignih tumora (11). Ovaj primarni pik incidence je praćen smanjenjem i platoonom u incidenci u uzrastu između 25. i 60. godine starosti. Sekundarni, manji pik incidence se primećuje tokom 7. i 8. decenije života. Ova bimodalna starosna distribucija osteosarkoma se može videti širom sveta (18).

#### **Pol.**

Osteosarkom je zastupljeniji kod muškog pola nego kod ženskog (odnos muškog i ženskog pola, 1.5:1) (4).

#### **Lokalizacija tumora.**

Najčešća lokalizacija pojave OSA je u dugim kostima donjih ekstremiteta (12, 15, 17, 19). S obzirom na pik incidence javljanja ovog tumora u 2. deceniji života, tokom adolescentnog naglog razvoja, smatra se da postoji uzročna veza između brzog koštanog rasta tokom adolescencije i razvoja ovog maligniteta (20). Osteosarkom se obično javlja u metafizama dugih kostiju, najčešće oko kolena (10), sa predilekcijom zahvatanja metafiza najbrže rastućih kostiju tokom ovog perioda: distalnog femura, proksimalne tibije i proksimalnog humerusa, što dodatno pojačava ovu uzročnu vezu (20). Zahvaćenost aksijalnog skeleta i kraniofacijalnih kostiju primarno se dijagnostikuje kod odraslih (10), dok je kod dece i adolescenata redje prisutna (4).

### **1.2.2. Incidenca Ewing sarcoma**

#### **Uzrast.**

Ewing sarkom se može javiti u različitoj životnoj dobi, od perioda odojčeta do starijeg uzrasta. U 80% slučajeva, ovaj tumor se javlja kod pacijenata mlađih od 20. godine života. Maksimalna incidenca javljanja je tokom 2. decenije života, mada se u 1. deceniji života dijagnostikuje 20-30% slučajeva Ewing sarkoma (21).

#### **Pol.**

Ewing sarkom ima veću učestalost javljanja kod muškog pola (odnos muškog i ženskog pola, 1,3-1,5: 1) (21).

#### **Lokalizacija tumora.**

Ewing sarkom može da zahvati bilo koju kost, ali pokazuje predilekciju javljanja na trupu i dugim kostima. U aksijalnom skeletu, dominantna je pojava u karličnim kostima (kod oko 25% pacijenata), a potom u skapuli, kičmenom stubu, rebrima i klavikuli. ESA je kod oko 50% pacijenata lokalizovan u ekstremitetima (10, 21). Od dugih kostiju, najčešće mesto javljanja je femur, a zatim humerus, tibija i kosti podlaktice. Za razliku od osteosarkoma, Ewing-ov sarkom dugih kostiju ima tendenciju rasta iz dijafiza, pre nego metafiza. Prvenstveno se javlja u kostima, sa retkom pojavom u mekim tkivima. Većina ekstraosealnih Ewing - ovih sarkoma pogađa pacijente starosne dobi između 10. i 30. godine života, sa pikom incidence javljanja oko 20. godine života. Najčešća mesta javljanja su zid grudnog koša, paravertebralna muskulatura, ekstremiteti, glutealna regija i retroperitonealni prostor (21).

### **1.3. Dijagnoza**

Koštane sarkome je često teško prepoznati kao maligne lezije od strane kliničara, radiologa i patologa. Prema tome, sve pacijente sa suspektnim primarnim malignim

koštanim tumorom, pre biopsije, treba uputiti u referentni centar za koštane sarkome ili u instituciju koja pripada specijalizovanoj mreži za koštane sarkome (22-25).

### 1.3.1. Anamneza

Pri uzimanju anamneze pacijenta, trebalo bi se fokusirati na dužinu trajanja simptoma, njihov intenzitet, kao i vreme kada se javljaju, na primer, noćni bol ili fraktura. Takođe, specifičnosti koje su vezane za koštane tumore, uključuju prethodno prisustvo benignih ili malignih lezija, porodičnu anamnezu i prethodnu primenu radioterapije. Nedavna povreda ne isključuje maligni tumor, i ne sme sprečiti primenu odgovarajućih dijagnostičkih procedura (26).

### 1.3.2. Klinička slika

Kliničke karakteristike koštanih tumora često su nespecifične ili su neprepoznate, a kao posledica toga često se ne otkriju u ranoj fazi bolesti. Simptomi koji ukazuju na koštane tumore su bol, otok i opšta nelagodnost. Takođe, nekada se mogu otkriti sa pojavom spontanih fraktura tumorom zahvaćenih i strukturno izmenjenih kostiju (27). Prisustvo perzistentnog nemehaničkog bola bilo koje kosti, a koji traje više od nekoliko nedelja, trebalo bi da izazove zabrinutost i vodi daljem neodložnom ispitivanju. Otok će jedino biti prisutan ako tumor progredira kroz korteks i distendira periost (28-30).

## Osteosarkom

Najveći broj pacijenata sa osteosarkomom se žali na bol iznad zahvaćene regije, koji se javlja pre pojave otoka mekog tkiva. To važi za bilo koji primarni tumor kostiju, jer istezanjem periosta nastaje bol, pre nego što tumor postane uočljiv. Prosečno trajanje simptoma u vidu bola je oko 3 meseca, ali nekada i 6 meseci, pa čak i duže (4, 20). Bol takođe može biti rezultat slabljenja kosti, uz razvoj frakture. Pojava iznenadnog i jakog bola, najavljuje patološku frakturu, što je neuobičajen nalaz kod odraslih pacijenata, dok se u pedijatrijskom uzrastu, do 15% pacijenata prezentuje patološkom frakturom. Drugi

najčešći simptom je pojava otoka, kao posledica prisutne mekotkivne mase. Iako se oko 90% osteosarkoma širi u meka tkiva, kod manjeg broja pacijenata dominira otok. Jako retki su sistemski simptomi u vidu gubitka težine, bledila, groznice i anoreksije (4).

### **Ewing-ov sarkom**

Za Ewing - ov sarkom je tipična rapidna progresija. Unutar nekoliko nedelja, lezije skeleta progrediraju do velikih tumora, uz zahvatanje mekih tkiva. Najraniji simptom je bol. U početku je bol intermitentan i blagog je intenziteta, ali brzo napreduje do tačke u kojoj postaje tako intenzivan da zahteva korišćenje analgetika. U slučaju lokalizacije tumora u kičmi ili karličnim kostima, bol može biti praćen parestezijama. Kako bol može prethoditi definitivnoj dijagnozi nedeljama, a nekada i mesecima ili godinama, pacijenti sa koštanim bolom, bez podatka o traumi, treba da se podvrgnu hitnom radiološkom snimanju. Najzad, rast tumora dovodi do pojave vidljivog ili palpabilnog otoka na zahvaćenom mestu. Ovaj otok je napet, elastičan, tvrd, brzorastući i praćen lokalnom toplotom. Međutim, tumorska masa može biti neprimetna u dužem vremenskom periodu u slučaju pelvične, spinalne ili femoralne lokalizacije, jer su ti tumori duboko postavljeni i nepalpabilni. Takođe, i u slučajevima kada se Ewing - ov sarkom širi samo spongioznom kosti ili duž medularnog kanala dugih kostiju, pa izostaje ekspanzija izvan korteksa (21). Često su prisutni simptomi i znaci anemije, groznica, kao i gubitak apetita i težine u slučajevima odmakle bolesti (21, 31).

#### **1.3.3. Fizikalni pregled**

Kod svih pacijenata treba uraditi kompletan fizikalni pregled, sa posebnim usmeravanjem pažnje na veličinu i konzistenciju otoka, njegovu lokalizaciju i pokretljivost, odnos otoka sa zahvaćenom kosti, kao i prisustvo uvećanja regionalnih ili lokalnih limfnih čvorova (26).

#### **1.3.4. Laboratorijske analize**

Ne postoje specifični laboratorijski testovi za postavljanje dijagnoze OSA i ESA. Neke od analiza, poput alkalne fosfataze (AP) i laktat dehidrogenaze (LDH), mogu biti korisne kao prognostički factor i biti korišćene za praćenje toka bolesti (32, 33).

#### **Osteosarkom**

U laboratorijskim nalazima krvi, može se videti povišeni nivo alkalne fosfataze, ubrzana sedimentacija eritrocita, kao i povišeni nivo laktat-dehidrogenaze u 30% slučajeva (34).

#### **Ewing-ov sarkom**

Uobičajene laboratorijske analize krvi, seruma i urina nisu specifični za postavljanje dijagnoze Ewing-ovog sarkoma. Mada se često mogu videti nespecifični pokazatelji inflamacije kao što je ubrzana sedimentacija eritrocita, umerena leukocitoza, kao i pokazatelji anemije. Moguće su i povišene vrednosti laktat-dehidrogenaze u serumu. U nekim studijama se navodi da povišeni nivo laktat-dehidrogenaze u krvi korelira sa lošijom prognozom bolesti (31, 35).

Nivoi kateholamina u serumu i urinu su normalni, za razliku od neuroblastoma. Međutim, u uzorcima periferne krvi pacijenata sa ESA, moguće je utvrditi prisustvo fuzionog gena EWS-FLI1 (31).

#### **1.3.5. Radiološke dijagnostičke procedure**

Bez obzira na vrstu koštanog sarkoma, radiološke dijagnostičke procedure snimanja su od ključnog značaja za postavljanje dijagnoze, stadiranje bolesti, hirurško planiranje, procenu terapijskog odgovora i praćenje nakon završene terapije. Inicijalna

evaluacija se zasniva na radiografiji zahvaćenog sektora skeleta. *Magnetic resonance imaging* (MRI) je indikovana nakon radiografski vizualizovanog koštanog tumora. Bez obzira na veliki značaj radiološkog snimanja, biopsija sa patohistološkom analizom dobijenog uzorka tkiva je neophodna za postavljanje definitivne dijagnoze (36).

## **Radiografija**

Prva primenjena dijagnostička metoda treba uvek da bude konvencionalna radiografija u dva pravca (26), koja je izuzetno korisna kod pacijenata sa malignim koštanim tumorima i obično sugerise malignu prirodu lezije (21, 26, 37).

## ***Magnetic resonance imaging* (MRI)**

Kada se dijagnoza maligniteta ne može sa sigurnošću isključiti radiografijom, sledeći modalitet snimanja je (MRI) celog kompartmana sa susednim zglobovima, što je najbolji dijagnostički modalitet za prikaz tumorom zahvaćene regije (26).

MRI ima prednost u odnosu na druge modalitete snimanja, jer pruža odličan kontrast između tkiva i omogućava procenu veličine tumora, njegove proširenosti, kao i odnos prema neurovaskularnim strukturama i zglobnom prostoru (26, 37-39).

MR sekvence obično obuhvataju nekontrastnu T1 sekvencu, T2 sekvencu sa saturacijom masti, STIR sekvencu i postkontrastnu T1 sekvencu sa saturacijom masti. Trebalo bi ih izvesti u najmanje dve ravni, a poželjno je u tri ravni, sa jednom longitudinalnom sekvencom snimanja koja obuhvata celu kost (26, 40, 41).

Merenje intramedularnog tumora može biti teško usled prisustva peritumorskog edema (42). Nekontrastna T1 sekvenca (43), postkontrastna dinamička MR (39, 44), ili kombinacija T1 sekvence sa STIR sekvencom, mogu biti od koristi (42) za razlikovanje tumora od okolnog edema (45).

Primenom gore navedenih sekvenci, osteosarkom i Ewing-ov sarkom, prikazuju se kao heterogene lezije, sa dominantno niskim intenzitetom signala na T1 sekvenci i visokim intenzitetom signala na T2 i STIR sekvencama. Pokazuju varijabilno kontrastno

prebojavanje, usled prisutnih zona nekroze. Nekada može biti teško odrediti margine tumora, zbog prisustva peritumorskog edema (26, 37-39).

MRI je izuzetno važna metoda u određivanju transfizealnog širenja tumora u epifiziju i proceni zahvaćenosti neurovaskularnih struktura, što je bitno za hirurški pristup (46).

MRI pregledom se mora obuhvatiti mesto primarnog tumora i cela kost u kojoj se tumor nalazi, a u cilju identifikacije potencijalnih *skip*-lezija (40, 47). *Skip*-lezije predstavljaju embolijske mikrometastaze unutar sinusoida kostne srži, kosti koja je zahvaćena primarnim tumorom. U diskontinuitetu su sa primarnim tumorom (48). Transartikularne *skip*-metastaze se javljaju unutar zgloba u blizini primarnog tumora. *Skip*-lezije se obično vide kod visokogradusnih sarkoma i prognostički su faktori lošeg preživljavanja (48, 49). U poređenju sa MRI, scintigrafija skeleta <sup>99m</sup>Tc-MDP-om, je nedovoljno pouzdana u prikazu *skip*-metastaza (50-52) ili drugih multifokalnih koštanih lezija (53).

### ***Computed tomography (CT)***

CT je dijagnostička metoda koju bi trebalo koristiti samo u slučaju dijagnostičkih problema ili sumnje, a u cilju jasnije vizualizacije kalcifikacija, periostalnog formiranja kosti ili kortikalne destrukcije (10). CT grudnog koša se koristi za otkrivanje metastatske bolesti pluća. U poređenju sa radiografijom grudnog koša, znatno je senzitivnija metoda za detekciju metastatskih lezija pluća, malih dimenzija (26).

### **1.3.6. Biopsija**

Definitivna dijagnostička metoda je biopsija (21). Biopsija suspektnog primarnog malignog koštanog tumora treba da se obavlja u referentnom centru, a od strane hirurga koji treba da izvrši definitivnu resekciju tumora ili od strane radiologa koji je član tima (17, 54-56). Iako se uzorkovanje tumorskog tkiva može izvesti aspiracionom biopsijom, finom

iglom ili “*core needle*” biopsijom, najadekvatnije uzorkovanje se postiže incizionom otvorenom biopsijom (21).

Principi biopsije su:

- težiti minimalnoj kontaminaciji normalnih tkiva;
- u mnogim situacijama, *core-needle* biopsije (koje se rade pod kontrolom radiološkog snimanja), odgovarajuća su alternativa otvorenoj biopsiji;
- sigurnost da je načinjeno adekvatno uzorkovanje onih tumorskih zona koje su reprezentativne za histološku analizu;
- zbog potencijalne diferencijalne dijagnoze, neophodno je slanje uzoraka tkiva i na mikrobiološku analizu, u svim slučajevima;
- uzorke tkiva mora tumačiti iskusni patolog, uz saradnju radiologa;
- forma obrasca bi trebalo da sadrži dovoljno informacija za patologa, uključujući: mesto tumora, starost pacijenta i vrstu radiološkog snimanja kao i opis radiologa nalaz (10).

Dobijene uzorke tkiva bi trebalo brzo dostaviti na patološku procenu, idealno za pola sata. Potrebno je naznačiti da li je koštani uzorak koji se dostavlja na patološku analizu dobijen iglenom biopsijom, kiretažom ili ekscizijom (npr. segmentnom resekcijom, amputacijom ekstremiteta ili drugom kompleksnom resekcijom, kao što je hemipelvektomija). Obično je neophodna dekalifikacija biopsata koštanog tumora. Patolog treba da dobije informacije o kliničko - radiološkom kontekstu pojave tumora, relevantnim zapažanjima u toku operacije i da li je pacijent primio preoperativnu hemioterapiju. Treba naznačiti i veličinu tumora (merenu u tri dimenzije, u milimetrima) u resektovanoj kosti (10).

Trebalo bi opisati histološke karakteristike tumora i naznačiti tip (i podtip) tumora, prateći klasifikaciju koštanih tumora datu od strane Svetske zdravstvene organizacije (SZO) iz 2013. godine (57).

Izveštaj patologa treba da sadrži opis obima lokalne proširenosti tumora, uključujući i zahvaćenost specifičnih anatomskih kompartmana. Treba navesti da li su ivice resekcije čiste ili su zahvaćene tumorom, kao i distancu tumora od najbliže ivice resekcije, izraženu u



milimetrima. Trebalo bi zabeležiti i rezultate relevantnih pomoćnih ispitivanja (npr. imunohistohemije) (58).

### **1.3.7 Stadiranje -procena stepena proširenosti bolesti**

U svim slučajevima suspektnog koštanog tumora, neophodan je multidisciplinarni pristup koji uključuje rad od strane radiologa koji tumači snimke dobijene radiološkim dijagnostičkim metodama, rad patologa koji vrši analizu biopsiranog uzorka tkiva, rad hirurga, radioterapeuta, kao i medikalnog onkologa. Ovakav pristup će smanjiti rizik od postavljanja pogrešne dijagnoze, grešaka u stadiranju, proceni rizika i terapiji (10).

U upotrebi je nekoliko sistema za stadiranje koštanih tumora (59, 60), ali nijedan od njih nije idealan, niti opšte prihvaćen. Postoje dva glavna faktora za procenu kliničkog stadijuma koštanih tumora, a to su primarna tumorska masa i prisustvo detektabilnih metastaza (10).

Procena stepena proširenosti bolesti uključuje scintigrafiju skeleta, radiografiju grudnog koša, CT (61), MRI celog tela i *positron emission tomography* (PET), PET/CT ili PET/MRI (62). Mogu se primeniti i dopunska odgovarajuća radiološka snimanja, kao i biopsija suspektnih mesta, s obzirom da egzaktna procena proširenosti bolesti ima uticaj na terapiju i ishod bolesti (10). Za kompletanu procenu stepena proširenosti bolesti, pored definisanja primarnog tumora, takođe se mora utvrditi prisustvo metastatske bolesti. Otkrivanje udaljenih koštanih metastaza se može vršiti scintigrafijom skeleta, korišćenjem *Single-photon emission computed tomography* (SPECT) tehnike (26). PET/PET-CT su korisne dijagnostičke metode za otkrivanje udaljenih metastaza koštanih sarkoma (63, 64).

U odnosu na druge dijagnostičke metode, pokazano je da su ove metode superiornije u otkrivanju koštanih metastaza i *skip* mekotkivnih metastaza (26, 64-67). PET/PET-CT može takođe biti od koristi za otkrivanje koštanih metastaza, koje ne pokazuju abnormalnu aktivnost na scintigrafiji skeleta, <sup>99m</sup>Tc-MDP-om (62).

Ove metode imaju i svoja ograničenja. Bez obzira na njihovu visoku senzitivnost u otkrivanju udaljenih metastaza, detekcija plućnih lezija čiji je dijametar manji od 5 mm, obično je ispod praga njihove rezolucije (63, 64). Plućni noduli dijametra između 5 i 9 mm,

često su nedetektabilni PET-CT-om (63). Pored toga, metabolička aktivnost benignih lezija, na mestima infekcije i u normalnim strukturama, posebno u pedijatrijskom uzrastu, može komplikovati interpretaciju aktivnosti  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT (*2-deoxy-2-[fluorine-18] fluoro-D-glucose*) (63, 68-70). Stoga, spiralni CT ostaje najsenzitivniji trenutno dostupni modalitet za otkrivanje plućnih metastaza (63, 69).

#### **1.4. Diferencijalna dijagnoza**

U sklopu diferencijalne dijagnoze malignih koštanih tumora, treba misliti na benigne tumore ili na metastatsku bolest, kako kod odraslih, tako i kod dece. Obe grupe bolesti čine većinu u odnosu na primarne maligne koštane tumore (28-30). Najverovatnija dijagnoza suspektog koštanog tumora vezana je za uzrast pacijenta. Pre pete godine života, destruktivna koštana lezija je najčešće metastaza neuroblastoma ili eozinofilni granulom, a iznad pete godine života, treba razmišljati o primarnoj koštanoj neoplazmi. Kod pacijenata iznad 40. godine života, treba najpre misliti na metastatsku leziju ili mijelom (71).

Postavljanje dijagnoze osteosarkoma je obično jednostavno. Radiološke karakteristike tumora su od velikog značaja za postavljanje dijagnoze, ali nekada njihov prikaz može da izazove diferencijalno dijagnostičke dileme. Imajući u vidu različite forme osteosarkoma, diferencijalna dijagnoza ovog koštanog tumora je široka. Diferencijalno dijagnostički OSA se porede sa aneurizmalnom koštanom cistom, konvencionalnim gigantocelularnim tumorom i sklerozirajućim osteomijelitisom. Čisto osteolitički osteosarkom može imitirati fibrosarkom ili gigantocelularni tumor. Osteosarkom sa dijafizalnom lokalizacijom može sugerisati Ewing - ov sarkom ili limfom (1, 2).

Pošto se inicijalna dijagnoza određuje na maloj biopsiji, pojedine forme osteosarkoma se mogu pogrešno dijagnostikovati kao hondrosarkom, hondroblastom, hondromiksoidni fibrom, osteoblastom ili čak Ewing – ov sarkom (sitnoćelijska varijanta).

Takođe, histološki, osteosarkom se mora razlikovati od slabo diferenciranog fibrosarkoma, kao i, izuzetno, od aneurizmalne koštane ciste (1-3).

## 1.5. Terapija

Kako su primarni maligni koštani tumori retki i kako je pristup ovoj patologiji kompleksan, kao standard je usvojeno da se terapija ovih tumora sprovodi u referentnim centrima i / ili unutar referentnih mreža, koji mogu pružiti kompletan spektar nege. U ovim centrima/mrežama, terapija koja se daje je u skladu sa protokolima lečenja ili se daje u okviru prospektivnih, kliničkih studija. U slučaju visokogradusnog osteosarkoma i Ewing - ovog sarkoma, a nakon biopsijom potvrđene dijagnoze, indikovana je primarna hemioterapija (10).

### Osteosarkom

Vizualizovanoj tumorskoj leziji na MRI sledi biopsija, nakon čije postavljene dijagnoze osteosarcoma sledi preoperativna hemioterapija MAP ( *Doxorubicin (Adriamycin)* 75 mg/m<sup>2</sup> + *Cisplatin* 100 mg/m<sup>2</sup>, visokodozni *Methotrexate* 12 g/m<sup>2</sup>). Sprovodi se tri ciklusa terapije koji alteriraju na tri nedelje. Nakon toga se sa MRI koji prati CT pluća radi ponovne procene stepena proširenosti bolesti. Dalji algoritam lečenja podrazumeva operaciju nakon čega se histopatološki određuje stepen tumorske nekroze na one koji imaju dobar terapijski odgovor sa više od 90 procenata tumorske nekroze i na one koji su loše odgovorili manje od 90 procenata tumorske nekroze. Terapija kod onih koji su dobro odgovorili se nastavlja sa još tri ciklusa MAP dok oni sa lošim odgovorom uz tri ciklusa MAP primaju i visokodozni *Ifosfamide* 14 gr/m<sup>2</sup>.

*Doxorubicin*, *Cisplatin*, visoke doze *Methotrexate*, *Ifosfamide* i *Etoposide* pokazuju antitumorsku aktivnost u osteosarkomu (72-75). Kao osnova lečenja, najčešće se koriste doxorubicin, cisplatin i visoke doze metotreksata (75). Ove lekove bi trebalo administrirati u referentnim institucijama, uz adekvatnu potpurnu negu od strane iskusnih pedijatrijskih

onkologa ili medikalnih onkologa, prateći multidisciplinarni vid lečenja (73). Koriste se različite preoperativne i postoperativne kombinacije lekova, u sklopu uobičajene prakse i kliničkih ispitivanja. Po najnovijim protokolima, period preoperativne hemioterapije prethodi lokalnom hirurškom tretmanu i omogućava procenu tumorskog odgovora. Međutim, nije se pokazalo da to vodi boljem preživljavanju, u odnosu na samo primenjenu postoperativnu hemioterapiju (76, 77). Terapija se obično daje u periodu od 6-10 meseci (75). Kad god je to moguće, pacijenti sa osteosarkomom bi trebalo da primaju hemioterapiju u kontekstu prospektivnih studija (78).

### **Ewing - ov sarkom**

Vizualizovanoj tumorskoj leziji na MRI i nakon biopsije, postavljene dijagnoze Ewing sarcoma sledi preoperativna hemioterapija tri ciklusa VIDE (*Vincristine* 1,5 mg/m<sup>2</sup> prvi dan, *Doxorubicin* 15 mg/m<sup>2</sup> prvog do četvrtog dana, *Etoposide* 150 mg/m<sup>2</sup> prvog do četvrtog dana, *Ifosfamide* 3,5 g/m<sup>2</sup> prvog do četvrtog dana. Sprovedena tri ciklusa u vremenskom intervalu od tri nedelje nalažu restejdžing koji će ukoliko se uspostavi da je ostvaren PR- partial response ili CR -complete response biti nastavljeni sa još tri terapijska ciklusa. Nakon toga operativnim lečenjem i nakon procene tumorske nekroze sledi postoperativna terapija VAI (*Aktinomycin D* 15 mg/m<sup>2</sup> prvi i drugi dan, *Ifosfamide* 3,5 g/m<sup>2</sup> prvi i drugi dan, *Etoposide* 150 mg/m<sup>2</sup> prvi i drugi dan) 6 do 8 ciklusa. Ukoliko se posle inicijalno sprovedena tri ciklusa hemioterapije pri restejdžingu utvrdi PD -progressive disease kod pacijenta se sprovodi sekundarna hemioterapija TEMIRI (*Temozolomide* 160 mg/m<sup>2</sup> i *Irinotecan* 20 mg/m<sup>2</sup>).

Po svim trenutnim ispitivanjima, po načinjenoj biopsiji, primenjuje se 3-6 ciklusa početne kombinovane hemioterapije, koja prethodi lokalnoj terapiji. Još 6-10 ciklusa hemioterapije primenjuje se obično u dvonedeljnim ili tronedeljnim intervalima. Trajanje terapije je 10-12 meseci. Lekovi koji se smatraju najaktivnijim su *Doxorubicin*,

*Ciklofosamid, Ifosfamide, Vincristine, Daktinomycin i Etoposide (79-83)*. Većina novih protokola se zasnivaju na primeni kombinacija od 6 prethodno navedenih lekova. Postoji pozitivna korelacija između intenziteta primenjene hemioterapije sa postignutim ishodom. Primena visokodozne hemioterapije uz transplantaciju hematopoetskih matičnih ćelija kod visokorizičnog lokalizovanog Ewing - ovog sarkoma, i dalje je u fazi istraživanja (84).

## **1.6.Procena tumorskog odgovora na hemioterapiju**

### **1.6.1. Patohistološka procena**

Histološka evaluacija resekcijom dobijenih uzoraka tumorskog tkiva, omogućava preciznu procenu efikasnosti preoperativne hemioterapije (85, 86), uz pomoć *Huvos grading sistem* (87), kao semikvantitativne metode.

Histološka evaluacija uzoraka tkiva podrazumeva određivanje stepena nekroze u odnosu na procenat rezidualnog vijabilnog tumorskog tkiva. Na taj način, uz pomoć *Huvos grading sistema*, u odnosu na procenat nekroze, mogu se dobiti četiri različita gradusa. Gradus 1 podrazumeva prisustvo malog procenta nekroze ili njeno potpuno odsustvo, dok kod Gradusa 2, zastupljenost nekroze je između 50% i 90%. Gradusi 1 i 2 se smatraju lošim odgovorom na terapiju, s obzirom na nizak procenat prisutne nekroze tumorskog tkiva (loši responderi). Kod gradusa 3, prisustvo nekroze je između 90% i 99%, a kod gradusa 4, procenat nekroze iznosi 100%. Gradusi 3 i 4 predstavljaju dobar terapijski odgovor, zbog visokog procenta prisutne nekroze tumorskog tkiva (dobri responderi) (88-90).

*Huvos grading sistem*, kao pouzdana prognostička metoda, u širokoj je upotrebi za procenu terapijskog odgovora na primenjenu neoadjuvantnu hemioterapiju (90), kako kod OSA, tako i ESA (91).

### **1.6.2. Radiološka procena**

Radiološke dijagnostičke metode omogućile su neinvazivnu identifikaciju, lokalizaciju i kvantifikaciju rezidualnog, vijabilnog tumora, tokom i nakon preoperativne hemioterapije, kod pacijenata sa koštanim sarkomima (85,92). Procena zasnovana na radiološkim snimcima pouzdanija je od kliničke procene tumorskog odgovora na hemioterapiju, ali predikcija histopatološkog odgovora nije uvek moguća (86).

Za procenu tumorskog odgovora na hemioterapiju, pored klasične radiografije, kompjuterizovane tomografije, radionuklidnih ispitivanja i konvencionalnog nativnog MRI, koristi se i dinamički kontrastni MRI (86). Dinamički MRI omogućava detekciju vijabilnijih delova tumora i korelira sa procentom tumorske nekroze koji određuju patolozi. Za evaluaciju efekta neoadjuvantne hemioterapije, preporučuje se njeno primena u kombinaciji sa histopatološkom procenom (93, 94).

Preoperativni MRI pregledi zahvaćenog sektora skeleta, sa primenom T1W sekvence i T2W sekvence sa supresijom masti, vrše se nakon završetka neoadjuvantne hemioterapije, 1-2 nedelje pre operacije (95).

### **1.7. Praćenje (*Follow – up*)**

Praćenje pacijenata sa primarnim malignim koštanim tumorom je neophodno u cilju pravovremenog otkrivanja lokalnog recidiva ili metastatskih lezija, a kada je još uvek moguće primeniti ranu, efikasnu terapiju (10).

Praćenje visokogradusnih koštanih tumora podrazumeva, pored obaveznog fizikalnog pregleda i procene funkcije, primenu radioloških dijagnostičkih metoda regije od interesa i radiografije ili CT pregleda grudnog koša (10).

Nakon završene hemioterapije, preporučeni follow - up pristup pacijentu podrazumeva obaveznu primenu kontrolnih pregleda u različitim intervalima. Tokom prve dve godine,

kontrole se sprovode na svakih 2 do 3 meseca, a tokom sledeće 3 do 4 godine, na svakih 2 do 4 meseca. Sledećih 5 do 10 godina, interval između kontrola iznosi 6 meseci. Nakon toga, u skladu sa kliničkom praksom i drugim faktorima, sledi period kontrolisanja na svakih 6 do 12 meseci (10).

U slučaju niskogradusnih koštanih sarkoma, kontrole mogu biti i ređe, na svakih 6 meseci tokom 2 godine. Sledi period godišnjih kontrola (10).

Kasne metastaze, kao i lokalni recidivi i funkcionalni deficit, mogu se javiti i posle 10 godina od postavljanja dijagnoze, pa ne postoji univerzalno prihvaćeno vreme kada se prekida sa nadgledanjem pacijenta (10).

## **1.8 Primena fraktalne i multifraktalne analize**

### **1.8.1 Fraktalna geometrija**

Euklidska geometrija sa svojim postavkama, kao osnovni koncept za prikaz i konstrukciju veštačkih objekata, do pre oko 200 godina, predstavljala je bazu za skoro sve geometrijske koncepte. Međutim, zakoni Euklidske geometrije se ne mogu primeniti na prirodne objekte, s obzirom na njihovu nepravilnost u obliku. Šire opisivanje složenosti oblika omogućeno je uvođenjem koncepta fraktalne ili necelobrojne dimenzije, kao novog koncepta. Fraktali imaju određene osobine, koje su definisane tzv. fraktalnom dimenzijom ( $D_f$ ).

Teoriju o mogućem postojanju kontinualne krive, ni u jednoj tački nediferencijabilne, dao je Theodor Weierstrass (1815-1897), dok je za uvođenje pojma necelobrojne dimenzije, veće od topološke dimenzije, zaslužan Felix Hausdorff (1869-1942). Georg Cantor (1845-1918) daje pojam Kantorovog skupa, koji definiše kao beskonačan skup tačaka u jediničnom intervalu  $[0,1]$ , iskazujući fraktalna svojstva. Pravila za konstrukciju fraktalnih kriva ili objekata (Koch curve i Sierpinski carpet), uveli su Helge von Koch i Waclaw Sierpinski

(96). Postavke ovih teorija koristeći ih kao osnovu, objedinio je Mandelbrot u formiranju koncepta fraktalne geometrije.

Benoit Mandelbrot, poljski matematičar i fizičar, 1967. godine, u časopisu *Science Magazine*, objavljuje rad, pod nazivom: “*How long is the coast of Britain? Statistical self-similarity and fractional dimension*”. Definisanjem pojma fraktala, njegovim kasnijim upotpunjavanjem i sistematizacijom, kroz ovaj rad, prvi put se fraktalna geometrija uvodi u oblast prirodnih nauka (97,98). Time je ukazao na besmislenost koncepta dužine u slučaju merenja nekog nepravilnog objekta, poput morske obale - od izbora jedinice mere zavisiće i dužina. Analizom, linija morske obale je nediferencijabilna u svim tačkama, pa se ne može definisati krivolinijski integral.

Fraktal (lat. *fractus*), reč je latinskog porekla, sa značenjem prelomljen ili izlomljen. Mandelbrot koristi pojam fraktal u cilju opisivanja nepravilne strukture prirodnih objekata i fenomena (oblaka, izgleda reljefa, turbulencije u atmosferi, kretanja u ekonomiji, itd.). Ovaj pojam se odnosi na matematički objekat sa frakcionalnom, odnosno necelobrojnom dimenzijom (96).

Priroda, sa svojom osnovnom karakteristikom u vidu samosličnosti (*self-similarity*), predstavlja glavnu filozofsku temu u oblasti fraktalne geometrije. Bez obzira na kompleksnost oblika ili dinamičkog ponašanja nekog sistema, sličnost oblika sa jedne skale sa oblicima sa druge skale, može se pronaći uz dovoljno pažnje i mašte. Mnoštvo prirodnih objekata pokazuju takve karakteristike. Pored prethodno navedenog primera morske obale, mogu se dati i primeri građe nervnog sistema, vaskularnog sistema, decimalnog mernog sistema itd.

Statistička samosličnost je odlika fraktala iz prirode, uz pokazivanje fraktalnih osobina ograničenog opsega posmatranih sistema razmera. Koncept fraktala nalazi osnovu u matematici kroz konstrukciju čudovišnih kriva (*monster curves*), tj. nedeljivih, kontinuiranih funkcija. Primenjujući relativno jednostavna pravila, ubacivanjem rezultata posle svake iteracije natrag u istu proceduru, moguće je veštački stvoriti kako čudovišne krive, tako i



veliki broj drugih fraktalnih struktura. Gledajući sa biološkog aspekta, pored osobine nediferencijabilnosti, Kohova kriva ima i osobinu beskonačnosti (99).

Karakteristike fraktalnih oblika ili signala su (100, 101):

**a) Nemaju karakterističnu dužinu.**

U pitanju je jedna od osobina fraktalnih oblika, na koju je ukazano primerom morske obale. Što je jedinica mere manja, sve je veća izmerena dužina fraktalne strukture, jer, posmatrajući strukturu sa sve veće blizine, oblik strukture se beskonačno ponavlja. S obzirom da je fraktalna linija nediferencijabilna, ne može se povući tangenta na fraktalnu liniju. Suprotno od fraktalne linije, glatka linija ima karakterističnu dužinu. Što je jedinica mere manja, sve je preciznija mera dužine ove krive (96)

**b) Poseduju osobinu samosličnosti**

Fraktalni oblici imaju istu strukturu, posmatrajući u bilo kojoj skali. Naziv ove karakteristike je i *svojstvo invarijantne skale* (96). Idealni fraktal postoji ukoliko svaka tačka idealnog fraktala predstavlja centar stvaranja novog, beskonačno samosličnog fraktala. Dovoljan uslov za definisanje i primenu fraktalne dimenzije je samosličnost.

Postoje dve grupe fraktala, izdvojene primenom značenja samosličnosti. Prvoj grupi pripadaju tzv. "egzaktni samoslični objekti". Pod odgovarajućim uvećanjem, njihovi manji egzaktno repliciraju njihove veće detalje. Kohova kriva (99) je tipičan primer. Drugoj grupi pripadaju "statistički samoslični" ili "slučajno stohastički" fraktali. Njihovi reprodukovani detalji su statistički slične kopije, a ne egzaktne kopije, kao što je slučaj kod "egzaktnih samosličnih fraktala". Ove dve grupe samosličnih fraktala pripadaju jednoj većoj grupi tzv. grupi "samosrodnih objekata". Samosrodnost (*self-affinity*) podrazumeva skaliranje različitih veličina u različitim pravcima. Samosrodni fraktali podležu ovom procesu tzv. samosrodne transformacije. Cilj je da se, pre primene povećanja uvećanja, tj. razmere u svim pravcima, ali istom vrednošću, obezbedi kopija originalne figure. Na primer, površina predela i profil iz prirode su samosrodni. Tamo gde su odnosi skaliranja u različitim pravcima isti, može se

reći da je samosličnost poseban slučaj samosrodnosti. Ovo je od velikog značaja kao metodologija za opis fraktala (102, 103).

### c) Imaju necelobrojnu dimenziju

Fraktalni oblici imaju necelobrojnu dimenziju, veću od odgovarajuće topološke dimenzije nefraktalnog objekta.

*Fraktalna dimenzija* predstavlja glavni analitički parametar koji se koristi za opis struktura sa tzv. skalirajućom simetrijom, dok *skalirajuća simetrija*, na promenljivoj skali uvećanja, predstavlja samosličnost posmatranih objekata. *Felix Hausdorff* prvi uvodi mere za popunjavanje prostora, sa mogućnošću necelobrojne dimenzije (104). "Skaliranje" (*scaling*) jeste pojam koji se odnosi na proces merenja istog objekta različitim jedinicama mere, tj. pod različitim uslovima. *Hausdorff* – ova ideja je upravo bila bazirana na konceptu skaliranja.

Topološke dimenzije (*TD*) služe za opisivanje pozicije i/ili oblika određenog objekta (98). Topologija skupa tačaka služi za klasifikaciju krivih i ravni. Euklidska dimenzija za Euklidsku tačku iznosi nula,  $D_E = 0$ , s obzirom da Euklidska tačka nema dimenziju. Topološka dimenzija za Euklidsku tačku iznosi takođe nula,  $D_T = 0$ . Vrednost Euklidske dimenzije za pravu liniju je jedan,  $D_E = 1$ , a vrednost topološke dimenzije je isto jedan,  $D_T = 1$ . U slučaju krive linije koja leži na površi, Euklidska dimenzija je dva,  $D_E = 2$ , a topološka dimenzija jedan,  $D_T = 1$  (mogućnost podele date krive na dva dela uz pomoć broja tačaka). Ako se kriva pruža kroz trodimenzionalni prostor, vrednost Euklidske dimenzije iznosi tri,  $D_E = 3$ , dok je vrednost topološke dimenzije i dalje jedan,  $D_T = 1$ .

Kod dvodimenzionalne površi, vrednosti i Euklidske i topološke dimenzije iznose dva  $D_E = 2, D_T = 2$ , a kod zakrivljene površi u trodimenzionalnom prostoru, Euklidska dimenzija dobija drugu vrednost koja iznosi tri,  $D_E = 3$ , dok topološka dimenzija zadržava

svoju vrednost, koja iznosi dva,  $D_T = 2$ . U slučaju tela, vrednost Euklidske dimenzije je tri,  $D_E = 3$ , kao i vrednost topološke dimenzije,  $D_T = 3$ .

Ako grupišemo više tačaka u određenom pravcu, postavljajući ih dovoljno blisko u okolinu inicijalno postavljene tačke, dobićemo strukturu koja predstavlja liniju. Na taj način, prvobitna vrednost Euklidske dimenzije nula,  $D_E = 0$ , postaje jedan,  $D_E = 1$ . S obzirom da su tačke razdvojene, Euklidska dimenzija je veća od nule, ali nikada ne može biti jednaka jedan. Linija, Euklidske dimenzije  $D_E = 1$ , prelamajući se pod nekim uglom posle određene dužine, postaje struktura u obliku izlomljene spirale, ukoliko se postupak prelamanja ponavlja više puta. Ako posmatramo na taj način dobijenu strukturu sa dovoljno velike razdaljine, stičemo utisak da je dobijena struktura, tj. površina homogena i da je njena Euklidska dimenzija jednaka dva,  $D_E = 2$ . Imajući u vidu da nije u pitanju homogena površinska struktura, već linijska, njena Euklidska dimenzija ne može biti precizno jednaka dva (105).

*Felix Hausdorff* definiše dimenziju skupa tačaka, necelobrojne vrednosti. Pri tome, vrednost ovakve dimenzije je veća od odgovarajuće topološke vrednosti (104).

### 1.8.2 Procena fraktalne dimenzije

Fraktalne strukture, poput prirodnih struktura i signala, ne mogu se dobiti jasno definisanim pravilima, pa se i određivanje njihove fraktalne dimenzije ne može izvršiti dimenzijom samosličnosti. U te svrhe, mogu se koristiti neke druge metode, kao što je tzv. *box-counting* metoda, ili metoda prekrivanja. Na taj način se može odrediti *dimenzija prekrivanja* (*cover dimension*). Ovom *box-counting* metodom, fraktalni objekat se prekrije mrežom bokseva kvadrata ili kocki. Mreža bokseva kvadrata se koristi kod jednodimenzionalnih (1D) signala, poput vremenskih serija, dok se mreža bokseva kocki koristi kod dvodimenzionalnih (2D) signala, poput signala slike (96).

Ova metoda nije teška za upotrebu i relativno brzo se dobiju izračunate fraktalne dimenzije. Kod 1D signala, fraktalne dimenzije, precizno procenjene ovom metodom, kreću se između 1 i 1.5, a kod 2D signala između 2 i 2.5.

*Korelaciona dimenzija, dimenzija kapacitivnosti, informaciona dimenzija*, metode su koje se takođe mogu koristiti u cilju dobijanja fraktalnih dimenzija.

Fraktalna dimenzija je jedan od deskriptora za fraktalne tj. samoslične karakteristike. A od drugih deskriptora, može se koristiti Hurst indeks (H). Postoji više načina za određivanje ovog indeksa: R/S statistikom, metodom periodograma, indeksom disperzije (IDC) itd. Relacijom (1)

$$D = D_E + 1 - H \quad (1)$$

moguće je napraviti korelaciju između fraktalne dimenzije (D) i Hurst indeksa, gde  $D_E$  odgovara Euklidskoj dimenziji signala ili objekta koji posmatramo.

Ukoliko je Hurst indeks određenog procesa jednak 0.5, takav proces je slučajni (*random walk*). S obzirom da ne postoji korelacija između inkrementalnih pomeraja haotičnog kretanja čestica, ova karakteristika odgovara standardnom Braunovom kretanju. Uspostavljanje pozitivne korelacije između inkrementalnih pomeraja je moguće ukoliko je Hurst indeks veći od 0.5. To znači da će inkrementalni pomeraj čestice u datom trenutku  $t = t_0$ ,  $x(t_0)$ , u drugom trenutku  $t > t_0$  imati sličnu tendenciju, u smislu iskazivanja karakteristike samosličnosti. Što je vrednost Hurst indeksa bliža jedinici, to je i ova tendencija izraženija. Negativna korelacija se uspostavlja ako je Hurst indeks manji od 0.5. To znači da vlada suprotan karakter promene u drugom trenutku poređenjem sa prethodnim trenutkom. Ovakav sistem karakteriše tendencija oscilovanja (96).

Nekada, izračunavanje fraktalne dimenzije 2D objekta, približne vrednosti, moguće je metodom koja se koristi za 1D slučaj (106). Na taj način se, između fraktalne dimenzije konture koja ograničava površinu (D1) i fraktalne dimenzije površine (D2), uspostavlja jednostavna relacija (2)

$$D_2 \cong D_1 + 1 \quad (2)$$

Koristeći Landsat snimke, navedeni metod je upotrebljen u cilju određivanja profila reljefa (106).

Uvođenje beskonačne hijerarhije fraktalnih dimenzija, tj. generalizovane fraktalne dimenzije, bilo je neophodno zbog "jedinstvenog otiska prsta" multifraktalnog objekta (107, 108) d-dimenzionalni sistem, podrška za meru  $\mu$ , podeljen je na d-dimenzionalne kocke, veličine  $\varepsilon$ .

$$P_i(\varepsilon) = \int_i d\mu(x) \quad (3)$$

Na i-toj kocki ivice dužine  $\varepsilon$ , predstavlja integrisanu meru (npr. verovatnoća pronalaženja elektrona u ovoj zapremini, posmatrano u fizičkom smislu).

"Funkcija podele" ("*partition function*") se definiše, relacija (4)

$$Z_q(\varepsilon) = \sum_i^{N_i(\varepsilon)} P_i^q \quad (4)$$

Rejnijeva informacija  $q$ -tog reda (109), data je kao relacija (5)

$$I_q(\varepsilon) = \frac{1}{1-q} \ln Z_q(\varepsilon) \quad (5)$$

Zatim sledi definicija generalizovane fraktalne dimenzije  $q$ -tog reda, kroz relaciju (6)

$$D_q = \lim \frac{I_q}{\ln 1/\varepsilon} \quad (6)$$

Određivanje prethodno definisane fraktalne dimenzije za ceo broj  $q$  (kao za posebne slučajeve), moguće je primenom ove definicije. Respektivno se mogu odrediti i tri dimenzije (kapacitivna, informaciona i korelaciona), uz primenu sledećih relacija (7), (8) i (9).

$$D_C = \lim_{q \rightarrow 0} D_q = D_0 \quad (7)$$

$$D_I = \lim_{q \rightarrow 1} D_q = D_1 \quad (8)$$

$$D_K = \lim_{q \rightarrow 2} D_q = D_2 \quad (9)$$

Za sve realne vrednosti  $q$ , može se definisati generalizovana dimenzija  $D_q$ . Predstavlja monotono opadajuću funkciju zavisnu od  $q$ . Uvodi se i pojam niže ograničavajuće dimenzije  $D_{-\infty}$ , kao i više ograničavajuće dimenzije  $D_{\infty}$ . Region u setu, gde je mera "najrazređenija" i "najgušća", povezan je sa ove dve dimenzije.

Prikazana je (110) jednakost Hausdorfove dimenzije i informacione dimenzije koristeći meru, na setu gde je mera koncentrisana

$$D_H = D_I = D_1 \quad (10)$$

Imajući u vidu zaključenu samosličnost seta, uopšteno posmatrajući, nalazimo da je

$$D_H = D_C = D_0 \quad (11)$$

Kapacitivna dimenzija  $D_0$  se može poistovetiti sa Hausdorfovom dimenzijom, a nekada i sa  $D_1$ , zbog najčešće posmatranih zatvorenih setova u fizici.

Naredna relacija (12) uvek važi:

$$D_E \geq D_C \geq D_H \geq D_I \geq D_{q>1} \geq D_T \quad (12)$$

gde je  $D_E$  Euklidska dimenzija, a  $D_T$  topološka dimenzija (obe prikazane celim brojevima).

### 1.8.3 Multifraktali

Ako uzmemo primer opšte raspodele verovatnoće, kao što je raspodela gubitka napona u otporničkim mrežama ili gustina raspodele kod *slučajnog puta* kod fraktala, zaključujemo da mnoge fizičke veličine ne podležu konvencionalnim pravilima skaliranja (111-113). Samo jedan eksponent ne može da okarakterise momente raspodela, pa se to može postići jedino beskonačnom hijerarhijom eksponenata. Ipoljavanje netrivialnog skalirajućeg ponašanja za različite vrednosti  $q = 1, 2, 3, \dots$ , može se videti na primeru momenata kvantne mehaničke talasne funkcije. Ovakav fenomen, prvi put opisan od strane *B. Mandelbrot* –a, sa kontekstom potpuno razvijene turbulencije (114), dobija novi naziv tzv. multifraktalnost. Ovaj novi pojam se odnosi na proces koji stvaraju multifraktalne strukture.

Stroge fraktalne osobine su u svojstvu veštački stvorenih objekata, za razliku od prirodnih objekata i pojava, kod kojih to nije slučaj, čak i kada su samoslični. Ako uzmemo za primer strukturu morskog obale, nekih bioloških sistema ili signala, kao i izgled reljefa ili oblaka, vidimo da oni pokazuju samoslične osobine, ali njihov oblik, posmatran u različitim skalama, nije u potpunosti identičan, iako se može reći da je sličan. Tu se upliće pojam *multifraktali*. Takva osobina se može videti na primerima savremenog telekomunikacionog saobraćaja, geofizičkih i meteoroloških pojava, statističkih podataka o populaciji stanovništva, biomedicinskih signala itd. Postoje određeni multifraktalni parametri. Oni služe za opisivanje ovakvih, prethodno navedenih, pojava, kao i za klasifikovanje objekata (115). To otvara nove mogućnosti, u smislu novog pristupa dijagnostici u medicini, koja na ovaj način postaje jednostavna i brza (116).

Precizno definisani parametri, poput parametara fraktala ili multifraktala, mogu biti od pomoći u pokušaju selekcije onih osobina modela koji bi najbolje mogli da opišu određeni fizički proces. U cilju odabira specifičnih parametara fraktala ili multifraktala, iz određenog skupa podataka, poslednjih godina se izdvaja veliki broj algoritama. Konkretna primena se može videti u analizi i predikciji savremenog telekomunikacionog saobraćaja (116-127), ali i drumskog saobraćaja (128). Dalja primena se nalazi u analizi meteoroloških podataka (129-136), kao i analizi biomedicinskih signala i oblika (137-141). Analiza raspodele ljudske populacije je takođe mesto njihove primene (142). Ali, posebno se izdvaja uloga u

prepoznavanju oblika, obrađivanju, kompresiji, kao i analizi i sintezi slika (100,101,115,116,117,143-147).

Kako bi se okarakterisali multifraktali, neophodno je uvesti određene veličine. Prvo se uvodi veličina  $\alpha$ , poznata i kao *grubi Hölder-ov eksponent* (100,148). Može se opisati sledećom relacijom (13)

$$\alpha = \frac{\log \mu(\text{box})}{\log \varepsilon} \quad (13)$$

gde se  $\mu(\text{box})$  odnosi na meru boksa, a  $\varepsilon$  na dimenziju veličine boksa. Fraktalna boks-dimenzija posmatrane mere, predstavljena je na ovaj način definisanom veličinom. Veličina  $\alpha$ , iz široke klase sebi-sličnih mera, preuzima vrednosti iz sledećeg intervala

$$[\alpha_{\min}, \alpha_{\max}] \quad (14)$$

$$0 < \alpha_{\min} < \alpha_{\max} < \infty \quad (15)$$

Ako posmatramo određenu strukturu sa svojom fraktalnom dimenzijom, možemo reći da je vrednost parametra  $\alpha$  bliska toj fraktalnoj dimenziji. Tako da je vrednost parametra  $\alpha$  raspodeljena oko vrednosti jedan, kada su u pitanju 1D signali. U slučaju 2D signala, raspodela vrednosti ovog parametra je oko vrednosti dva, itd. Frekvencijska raspodela  $\alpha$ , može se posmatrati tako što se odredi broj  $N_\varepsilon(\alpha)$  bokseva ivice  $\varepsilon$  koji imaju grubi Hölder-ov eksponent jednak  $\alpha$ , za svaku vrednost  $\alpha$ .

Ukupan broj bokseva ivice  $\varepsilon$  srazmeran je sa  $\varepsilon^{-D_E}$ .  $D_E$  se odnosi na Euklidsku dimenziju boksa. Verovatnoća da se među boksevima nađe onaj sa grubim Hölder-ovim eksponentom  $\alpha$ , može se predstaviti na sledeći način

$$p_\varepsilon(\alpha) = N_\varepsilon(\alpha) / \varepsilon^{-D_E} \quad (16)$$



Pri  $\varepsilon \rightarrow 0$ , ova raspodela ne teži graničnoj vrednosti, pa crtanjem raspodele ove verovatnoće ne bismo dobili očekivani rezultat. Umesto toga se uvode težinski logaritmi i posmatraju se funkcije

$$f_\varepsilon(\alpha) = -\frac{\log N_\varepsilon(\alpha)}{\log \varepsilon} \quad (17)$$

ili

$$C_\varepsilon(\alpha) = -\frac{\log p_\varepsilon(\alpha)}{\log \varepsilon} \quad (18)$$

Kada  $\varepsilon \rightarrow 0$ , obe funkcije,  $f_\varepsilon(\alpha)$  i  $C_\varepsilon(\alpha)$ , teže graničnim, dobro definisanim vrednostima  $f(\alpha)$  i  $C(\alpha)$  (104). Češće se koristi poznatija funkcija  $f(\alpha)$  (101). Ako postoji  $f(\alpha)$ , tada je od značaja sledeća korelacija

$$C_\varepsilon(\alpha) = f(\alpha) - D_E \quad (19)$$

Kada na ovaj način definišemo funkciju  $f(\alpha)$ , to znači da za svako  $\alpha$ , smanjenjem  $\varepsilon$ , broj bokseva raste po navedenoj zakonitosti

$$N_\varepsilon(\alpha) \approx \varepsilon^{-f(\alpha)} \quad (20)$$

Eksponent  $f(\alpha)$  predstavlja kontinualnu funkciju od  $\alpha$ . Grafik  $f(\alpha)$ , u najjednostavnijim slučajevima, oblika je matematičkog simbola  $\cap$ , koji je na jednu stranu uobičajeno nagnut.

Vrednost  $f(\alpha)$  može da se tumači kao fraktalna dimenzija podskupa boksova, dimenzije  $\varepsilon$ , sa grubim *Hölder*-ovim eksponentom  $\alpha$ , kada  $\varepsilon$  teži nuli. Dakle, povećava se mnoštvo podskupova kada  $\varepsilon$  teži nuli, a svakog od njih karakteriše posebna vrednost  $\alpha$  i fraktalna dimenzija  $f(\alpha)$ . Uvođenje pojma multifraktala usledilo je, između ostalog, i zbog gore navedenog.

Uvođenje tog  $f(\alpha)$ -spektra, omogućilo je stvaranje intuicije i predstave o unutrašnjoj strukturi multifraktala (149). Kao polazna tačka, uzima se ideja da je integrisana mera  $P_i(\varepsilon)$  proporcionalna sa

$$P_i(\varepsilon) \approx \varepsilon^{\alpha_i} \quad (21)$$

$\alpha_i$  predstavlja fraktalnu dimenziju u  $i$  i od mesta do mesta može varirati. Ako uključimo hipotezu skaliranja, broj kocki  $dN_\alpha$  u kojima  $\alpha_i$  ima vrednost  $\alpha$  i  $\alpha + d\alpha$ , ponaša se kao

$$dN(\varepsilon) = \varepsilon^{-f(\alpha)} n(\alpha) d\alpha \quad (22)$$

Možemo zaključiti da se  $f(\alpha)$  odnosi na fraktalnu dimenziju podseta. U tom podsetu, vrednost  $\alpha_i$  jednaka je  $\alpha$ . Za funkciju podele, dobija se

$$Z(q) = \int n(\alpha) \varepsilon^{-f(\alpha)+q\alpha} d\alpha \quad (23)$$

Uz korišćenje aproksimacije prevojne tačke, može se izračunati. Imajući to u vidu, korišćenjem (4), (5) i (6), dobija se korelacija sa generalizovanim fraktalnim dimenzijama  $D_q$ . Funkcija podele je proporcionalna sa

$$Z(q) \approx \varepsilon^{\tau_q} \quad (24)$$

gde je

$$\tau_q = (q-1)D_q \quad (25)$$

gde je  $f(\alpha_q)$  povezana sa  $\tau_q$  preko Ležandreove transformacije

$$f(\alpha_q) = q\alpha_q - \tau_q \quad (26)$$

$$\alpha_q = \frac{d\tau_q}{dq} \quad (27)$$

(u (150) može se videti detaljnija diskusija).  $f(\alpha)$  spektar zbog toga daje iste informacije kao  $D_q$ . Parametar  $\tau_q$  predstavlja tzv. maseni eksponent ili korelacioni eksponent  $q$ -tog reda. Dakle, skup nezavisnih monofraktala, dimenzija  $f(\alpha_i)$  može se interpretirati kao multifraktali. Postoji proporcionalnost između  $P$  i Lipsic-Holderovog (*Lipschitz-Hölder*) -eksponenta  $\alpha_i$  na svakom od ovih fraktala  $i$ .

Uz pomoć jednakosti (4), (5) i (6) i naknadnim izračunavanjem  $f(\alpha_q)$  Ležandreovom transformacijom, moguće je, ali je jako komplikovano, direktno izračunati  $D_q$ .

Kako bi se odredila funkcija  $f(\alpha)$ , može se primeniti neka od postojećih metoda (148,151-153). Jedna od njih jeste metoda momenata (148), precizna u dobijanju tačnog rezultata, ali komplikovanog postupka za dobijanje rezultata. Sa svrhom računanja spektra  $f(\alpha)$  određene multifraktalne strukture, A. Chhabra i R. Jensen predstavljaju manje komplikovanu i značajno precizniju metodu (153). Parametar  $\mu_i(q)$  je najpe definisan:

$$\mu_i(q, \varepsilon) = \frac{[P_i(\varepsilon)]^q}{\sum_j [P_j(\varepsilon)]^q} \quad (28)$$

Parametar  $q$ , povećavajući različite vrste oblasti fraktala, može da se poistoveti sa mikroskopom. Ako parametar  $q$  ima vrednost koja je veća od jedan ( $q > 1$ ), jako su povećane jedinstvene strukture, a ako su njegove vrednosti manje od jedan ( $q < 1$ ), više će biti istaknute manje jedinstvene oblasti. Kada je parametar  $q$  jednak jedan ( $q = 1$ ), biće kopirana originalna mera  $\mu(1)$ . Polazeći od  $\mu(q)$  kao osnove, informaciona dimenzija je

$$f(q) = \frac{\sum_i \eta_i(q, \varepsilon) \ln \mu_i(q, \varepsilon)}{\ln \varepsilon} \quad (29)$$

dok se, u  $i$ -toj poziciji , tj. u  $i$ -tom boksu

$$\alpha_i = \ln P_i(\varepsilon) / \ln \varepsilon \quad (30)$$

fraktalna dimenzija dobija (152):

$$\alpha(q) = \frac{\sum_i \eta_i(q, \varepsilon) \ln P_i(\varepsilon)}{\ln \varepsilon} \quad (31)$$

Mogu se istaći neke od opštih karakteristika funkcije  $f(\alpha)$ :

1.  $f(\alpha)$  predstavlja konveksnu funkciju sa jednom prevojnou tačkom i sa maksimumom u  $q=0$ , gde je  $f(\alpha_0) = D_0$  kapacitivna dimenzija.
2. U  $q = \pm\infty$  nagib je beskonačan  $\alpha_{\min} = D_\infty$  i  $\alpha_{\max} = D_{-\infty}$  respektivno.
3. U  $q=1$  informaciona dimenzija  $D_1 = f(\alpha_1) = \alpha_1$ , sa prvim izvodom  $f'(\alpha_1) = 1$ .
4. Kod monofraktala  $f(\alpha)$ -funkcija teži ka tački u prostoru  $\alpha$ ,  $f(\alpha)$ .

Ova funkcija se može izračunati na više načina, koristeći geometrijske pokazatelje i probabilističku teoriju kao polaznu osnovu. *Levy Vehel* predstavlja klasifikaciju spektara funkcije  $f(\alpha)$ , pri multifraktalnoj analizi slika (115). On razmatra slučajeve koji slede:

-*Spektar Hausdorff-ovih singulariteta*,  $f_h(\alpha)$ . Dimenzija skupa tačaka, koje imaju dato  $\alpha$ , data je ovim spektrom, a raspodela singulariteta dobija *geometrijski opis*.

-*Spektar velikih devijacija,  $f_g(\alpha)$* . Verovatnoća nalaženja tačke sa datim eksponentom na slici, u relaciji je sa statističkom informacijom koja se dobija ovim spektrom i daje probabilistički opis raspodele singulariteta. Koristeći realne podatke, nažalost se  $f_h(\alpha)$  i  $f_g(\alpha)$  teško mogu izračunati.

-*Ležandrov multifraktalni spektar,  $f_l(\alpha)$* . Tumačenjem samo usrednjene veličine, ovaj spektar se relativno lako može odrediti, ali sadrži manje informacija i rezultat je uvek konkavna funkcija. Korelacija između ovih veličina, predstavljena je na sledeći način

$$f_h(\alpha) \leq f_g(\alpha) \leq f_l(\alpha) \quad (32)$$

U cilju klasifikacije piksela prema vrednosti uređenog para  $(\alpha, f(\alpha))$ , kako u geometrijskom ( $f_h$ ), tako i u probabilističkom ( $f_g$ ) smislu, u oblasti multifraktalne analize slika možemo staviti znak jednakosti između  $f_h$  i  $f_g$  ( $f_h = f_g$ ). Lokalna informacija o regularnosti tačke dobija se iz vrednosti  $\alpha$ . Svaka tačka slike predstavljena je određenom vrednošću  $\alpha$ , u slučaju fiksne mere tj. nivoa sivog. Ukoliko tačke na slici tj. 2D signalu imaju vrednost  $\alpha$  koja je približno jednaka dva ( $\alpha \cong 2$ ), to znači da su u pitanju tačke gde se ne dešavaju velike promene, odnosno gde je mera regularna. Tačke koje imaju vrednost koja nije jednaka dva ( $\alpha \neq 2$ ), predstavljaju tzv. neregularne oblasti, tj. područja “gde se nešto dešava”. Tako, područja u kojima vlada veliki gradijent ili područja sa diskontinuitetom u signalu ili njegovim izvodima, predstavljena su tačkama na slici sa vrednošću  $\alpha$ , koja je ili mnogo manja od dva ( $\alpha \ll 2$ ) ili mnogo veća od dva ( $\alpha \gg 2$ ).

Globalna informacija o ponašanju skupa tačaka, dobija se kroz vrednost  $f(\alpha)$ . S obzirom da tačke na glatkoj konturi odgovaraju Euklidskoj dimenziji glatke linije, one pripadaju skupu čija je dimenzija,  $f(\alpha)$ , bliska vrednosti 1. Sa druge strane, tačke koje

karakterišu homogenu oblast, odnosno površinu, imaju vrednost koja je približno jednaka dva,  $f(\alpha) \cong 2$ .

Tačke na homogenoj površini se često sreću, pa imaju veću vrednost  $f(\alpha)$ . Sa druge strane, tačke ivice se retko sreću, a ćoškovci još ređe. Više bi bilo govora o homogenoj ili teksturalnoj zoni, u slučaju detekcije suviše mnogo taćaka ivice. Ove ćinjenice su osnova probabilistićke interpretacije  $f(\alpha)$ .

#### **1.8.4 Multifraktalna analiza slika**

Savremeni telekomunikacioni saobraćaj, elektrićni signali, kao i meteoroloćki i biomedicinski signali, primeri su signala razlićite prirode, ćesto brzo promenljivih, a koji se mogu opisati na slićan naćin. Neophodno je ispitivanje karakteristika fraktala, kako bi se mogla iskazati izraćena varijabilnost. Primenom neke od klasićnih statistićkih metoda, poput srednje vrednosti, standardne devijacije i drugih, moće nastati grećka u proceni. Multifraktalnost procesa ukazuje na izraćene singularitete.

Morfologiju ranih patoloćkih promena neurona (102), takoćde je moguće opisati uz pomoć fraktalne dimenzije. To je osnova za bolje razumevanje kompleksnih promena i mehanizma tih kpromena.

Analiza slike fraktalnom dimenzijom ima široku primenu u klasifikovanju slika u oblasti medicine (154), najpre zbog automatizacije, brzine i mogućeg ponavljanja željenih koraka u procesu obraćivanja slika. Znaćaj fraktala ogleda se i u mogućnosti kvantifikovanja celokupnih struktura i njihovom porećenju, ali i modeliranju bioloćkih, razvojnih i patoloćkih procesa.

Definisane su mere sa slika, koje odgovaraju nivoima sivog. To znaći da se kreću u opsegu od 0, koja predstavlja crno, pa sve do 1, koja se odnosi na belo. Na tom principu je zasnovana multifraktalna analiza (MF), ćijom primenom je omogućeno joć preciznije

klasifikovanje slika. Suprotno, kod binarnog odlučivanja, kao kod određivanja fraktalne dimenzije, postoje samo vrednosti 0 ili 1.

Glavna komponenta kompjuterskog vizuelnog problema je analiza slike. Našla je primenu kako u robotici, tako i u satelitskim ili medicinskim slikama. Kako bi se dobio željeni rezultat, sprovode se različite tehnike u procesu obrade. Opisivanje određenih objekata u sceni, postiže se jednom od tih tehnika, koja se zove segmentacija. Kod gradijenata signala, dobijenih procesom filtracije, postoji gruba korespondencija konturama od strane ekstrema. Multi-rezolucione tehnike za "prečišćavanje" dobijenih rezultata, takođe su u upotrebi. Ovakav pristup ima svoje nedostatke, jer se preliminarnim filtriranjem, gubi na preciznosti.

Međutim, nema klasičnog filtriranja u multifraktalnoj analizi. Najpre se generiše multifraktalni spektar. On dalje čini osnovu za pronalazak lokalne i globalne informacije o slici, što dalje omogućava da se na tačkama slike vrši segmentacija, otklanjanje šuma, kao i detekcija ivica.

Slika koja je nivoa sivog služi za definisanje različitih mera i kapacitivnosti. Sledeći korak se odnosi na određivanje multifraktalnog spectra. Na ovaj način se preko  $\alpha$  vrednosti, može dobiti lokalna informacija, dok se globalna informacija može dobiti preko  $f(\alpha)$ . Nema postavljanja hipoteza koje se tiču regularnosti signala. Time je predstavljen opšti princip multifraktalne analize slike.

Poređenjem sa "klasičnim" načinom analize signala, fraktalna i MF analiza (MFA) su od većeg značaja, i imaju prednost, imajući u vidu način razmatranja neregularnosti. Primenom klasičnog načina analize signala, za uvid u neregularnost i potiskivanje šuma, obično se posmatraju NF filtrirane verzije. Njihovo filtriranje se, ukoliko je to moguće, vrši sa različitih dubina. Za razliku od ovakvog pristupa, kod MFA se pokušava sa izdvajanjem informacija direktno iz singulariteta. U originalnom signalu, mogu se razdvojiti tačke nehomogenosti, koristeći određenu  $\alpha$  vrednost i  $f(\alpha)$  vrednost (115,120,121,146). Uz

pomoć inverzne multifraktalne analize (IMFA), moguće je izdvojiti određene regione slike, neuočljive bilo kojom drugom poznatom metodom. To se postiže izdvajanjem piksela slike koji odgovaraju izabranim vrednostima parametra  $\alpha$ , ili spektra  $f(\alpha)$ . Na ovaj način izvršena segmentacija slike, ne dovodi do degradacije inicijalne slike. S obzirom na nepromenjenost međusobnih odnosa piksela, detalji slike se u potpunosti zadržavaju. Ova karakteristika daje dodatnu prednost ovoj metodi. Potencijal primene IMFA u oblasti medicinske dijagnostike je veoma veliki, imajući u vidu značajnost opisane karakteristike. Inverzna multifraktalna analiza, primenjena je u klasifikaciji mikroskopskih uzoraka ćelija tkiva, (98,144).

### **1.8.5 Fraktalna morfometrija primenjena na biološke sisteme**

Razumevanje molekularnog mehanizma tumora je sve veće, ali bez obzira na tu činjenicu, i dalje se većina dijagnoza tumora postavlja različitim vizuelnim metodama, analizom radioloških slika, analizom biopsijskih uzoraka tkiva od strane odgovarajućih specijalista. Kvalitetnom primenom navedenih metoda, može se izvršiti klasifikaciju slika sa abnormalnostima u vidu visokog mitotskog indeksa ili strukturne iregularnosti. Pomoćno sredstvo za dijagnostiku može biti kompjuterska analiza slika, kao kvalitetniji i reproducibilniji metod. Iregularne strukture su tipične za rast tumora, pa njihove morfometrijske mere predstavljaju važnu osnovu za fraktalnu analizu.

Već prisutna velika istraživanja (140, 155-157) na polju primene fraktalnih dimenzija u oblasti patologije, proširena su novim, u kojima se vidi značaj primene fraktala i u oblasti tumor/parenhim ivica, celularne/nuklearne morfologije, kao i patologije vaskularne arhitekture.



Fraktalna analiza zdravih i patoloških vaskularnih uzoraka, kroz najpoznatije istraživanje iz ove oblasti, vršena je na oku (158-164), s obzirom na mogućnost lake analize vaskulature. Rastuća tumorska vaskulatura prikazana kroz slike nije dostupna za rutinsku kliničku upotrebu. Postoje određeni eksperimenti u kojima je moguće direktno posmatranje vaskulature. Uzorci tkiva miševa korišćeni su u istraživanju (155), u okviru koga je za tumorsku vaskulaturu utvrđena značajna konzistentnost fraktalnih dimenzija tj. skalirajućih eksponenata. Ta konzistentnost je utvrđena i iznad linije tumora. Time je razlika između gustine i karakteristika rasta utvrđena. Bitne karakteristike mehanizama vaskularnog rasta u tumorima, takođe se mogu otkriti uz pomoć ovih dimenzija (165-167). Minimalna dimenzija putanje, kao druga važna mera, izračunava se uz pomoć istog algoritma. Samo, preko slike je primenjen na najkraću putanju konekcije.

Tumorski rast kotrolišu različiti parametri, od kojih zavisi fraktalna dimenzionalnost tumor – stroma ivice. To je utvrđeno ispitivanjem potencijalnih odnosa parametara tumorskog rasta i parametara fraktalne dimenzionalnosti. Fraktalna dimenzionalnost je direktno ili indirektno proporcionalna određenim osobinama tumorskog rasta koje se odnose na povećanje stepena maligniteta (168).

Na primeru adenokarcinoma žučne kese, kroz ekperiment je dokazano da postoji fraktalna regularnost u distribuciji struktura sličnih žlezdama. Takođe je pokazano da se evaluacija kvantitativnog gradiranja tumora može vršiti uz pomoć fraktalne dimenzije, kao holističkog parametra (169). Ispitivanjem heterogene mikrovaskulature na primeru melanoma, pokazano je da se može odrediti kvantifikacija njihovih fraktalnih osobina, što je dalje dalo zaključak da se, uz pomoć fraktalne i multifraktalne metode, može razlikovati i kvantifikovati kompleksnost profila mikrovaskulature i njihove organizacije (170). U okviru citoloških ispitivanja karcinoma dojke, rađena je fraktalna analiza numeričke deskripcije pojave hromatina. Tada je zaključeno da, za određivanje kvantitativnih karakteristika pojave hromatina tj. hromatinskih osobina, korisne metode jesu upravo fraktalna dimenzija i lakunarnost. Kako bi se povećani kapacitet i reproducibilnost dijagnoze aspiracione biopsije tumora dojke osigurao, moguće je ubacivanje tih karakteristika u opremu koja služi za analizu slike (141). Istraživanja su rađena i na drugim tumorima. Ispitivanja su vršena u

smislu određivanja epitelijalno – vezivnotkivnog odnosa u drugim vrstama adenokarcinoma, zatim oblika ćelija u slučaju hematoloških malignih bolesti (171), fiziološkog rasta epitelnih ćelija, kao i rasta krvnih sudova (172), detekcije iregularnosti atipičnih nukleusa u karcinomima cerviksa uterusa (173). Takođe, ispitivanja su rađena i na primeru hepatocelularnog karcinoma (174). Detekcija kodiranja regiona DNK (156,175), razlikovanje tipova glijalnih ćelija (176, 177), kao i, kroz različite embrionalne stadijume, praćenje razvoja strukturnih elemenata (178). Druga histopatološka ispitivanja, takođe su rađena (179). Kroz sva, gore pobrojana istraživanja, došlo se do sličnih saznanja. Ali, ove metode se ne mogu smatrati isključivim dijagnostičkim sredstvima (180,181).

U biomedicini, posebno u oblasti praćenja dinamike nastanka i razvoja patološkog procesa, uvođenje pojma fraktalnosti, ne samo da je omogućilo opisivanje morfoloških osobina nekih promena, već je otvorilo mnoge druge mogućnosti. Osnov fluktuacija jeste deterministički kaos. Ove fluktuacije, naizgled stohastičke tj. izazvane slučajnom izmenom spoljašnjih uslova, zapravo su zaista izazvane nelinearnim, dinamičkim procesima. To je od velikog značaja u oblasti patologije, jer deterministički procesi mogu izazvati eksperimentalne podatke sa slučajnim fluktuacijama. U okvirima determinističkog haosa uočeni su uslovi koji su jako senzitivni na promene početnih uslova. Dakle, ukoliko se u patologiji dešava određeni haotični proces, neophodne su modifikacije metoda koje služe za predviđanje biološkog ponašanja određenih lezija, poput tumora (182). Iz svega navedenog proizilazi pretpostavljeni model. Ovaj modela ukazuje na nelinearnu dinamiku karcinogeneze.

S obzirom da bronhijalno stablo ima fraktalnu strukturu, postavljena je hipoteza da je razvoj epitelijalnih ćelija bronha, pod uticajem fraktalnog strukturalnog programa, izraženog kod neoplazija (183). Opisivanje neoplazmi bronha agresivnog ponašanja, u domenu je uticaja pomenutog fraktalnog programa. U prilog tome ide i činjenica da se najveći broj tumora nalazi na nivou prva tri reda deobe bronhijalnog stable, kada je u pitanju donji respiratorni trakt.

Za procenu rasta solidnih neoplazmi određivanje fraktalne dimenzije korišćeno je kao dodatni morfometrijski parameter što je otvorilo mogućnost kompjuterske simulacije tumorskog rasta. Pretpostavka da je rast neoplazmi pod uticajem fraktalne strukture ciljnog tkiva, otvorilo je i put njene primene. Analizom radioloških slika ili slika hirurških uzoraka izračunava se fraktalna dimenzija. Fraktalna dimenzija metastaze nepoznatog ishodišta, može pomoći u lokalizovanju primarnog tumora (184). Istraživanjem na ovu temu (179), zaključeno je da kolorektalni polipi, samo u određenom opsegu uvećanja, imaju fraktalnu strukturu. Takođe je pokazano da, izvan jasno definisanih uslova rezolucije i uvećanja, Euklidske morfometrijske mere su nedovoljno validne. Za klasifikaciju oblika tumora, fraktalna dimenzija je bolji metod. Među različitim dijagnostičkim kategorijama, koristan je morfometrijski diskriminant. To je posebno istaknuto sa razvojem kompjuterski asistirane dijagnostike (CAD), kao nove dijagnostičke grane (185, 186). Klasifikacija mamografskih slika u svrhu klasifikacije tkiva uz pomoć fraktalne prirode, još jedan je primer koji potvrđuje mogućnost dijagnostičke determinacije (187). To je pokazano i na primerima spontanih preloma kičmenog stuba (188), kao i određivanja strukture kostiju kod osteoporoze (189). Fraktalna dimenzija je pomoćna metoda za postavljanje definitivne dijagnoze (190).

U dinamičkim sistemima, opisivanje uslova rasta, odnosno evolucije bioloških struktura, takođe je moguće uz pomoć fraktalnih osobina (191-195). Fraktalna geometrija nalazi primenu unutar kompleksnog sistema kakav je organizam, i u oblasti fiziološkog, odnosno patološkog toka tečnih tkiva, što se najbolje može videti na primeru arhitektonike koronarnih arterija. (196-200). Takođe, primena fraktalne geometrije se može naći i kod ponašanja biomedicinskih signala, poput EKG-a i EEG-a (201-203).

Granična epitelijalno-vezivnotkivna površina, koju određuju patolozi, razdvaja tumor od okolnog zdravog tkiva. Ivice tumora mogu biti infiltracione i invazivne, kao i slabo ekspanzivne. Takvo ispitivanje i određivanje prirode ivica tumora je od značaja za postavljanje dijagnoze, bilo benignih, bilo malignih tumora, ali i za prognozu bolesti. Jedno od istraživanja u kome je ispitivana granična epitelno-vezivnotkivna površina jeste studija vršena je na oralnoj mukozii (103). Korišćena je rutinska dijagnostika za klasifikaciju lezija

u jednu od četiri kategorije: a) normalna; b) srednje izražena displazija; c) umerena do jaka displazija; d) karcinomi. Usledila je fraktalna analiza slika ovih lezija. Na taj način su, za četiri kategorije lezija, dobijene sledeće fraktalne dimenzije:  $1.07 \pm 0.05$ ,  $1.08 \pm 0.09$ ,  $1.16 \pm 0.08$ , i  $1.41 \pm 0.08$ , respektivno. Nije mogla biti prihvaćena kao nezavisno dijagnostičko sredstvo, imajući u vidu nedovoljno velike razlike, autori uvode u svoju studiju multifraktalnu analizu, kao sofisticiraniju metodu za analizu slika. Ovom metodom, umesto jedne vrednosti, dobije se spektar fraktalnih vrednosti za svaku sliku, pa je omogućena preciznija diskriminacija patologije.

U radovima čiji je cilj bio da se smanji broj lažno pozitivnih mamograma, pokazan je značaj fraktalnih metoda u oblasti analize digitalizovanih mamograma (204,205).

Pokazatelji rasta tumora su povećanje iregularnosti sa povezanim povećanjem fraktalne dimenzije (169, 204, 206 -213), što je nesumnjivo univerzalni rezultat.

Poslednjih godina, fraktalna analiza, kao matematički metod, uspešno je iskorišćena za analizu slika za mnoge bolesti, uključujući rak prostate (214), Alchajmerovu bolest (215), fokalne lezije jetre (metastaze kolorektalnog karcinoma) (216), glioblastoma multiforme (217), AV malformacija mozga (218), procenu normalne mikrovaskulature retine (219), ali i za ranu dijagnozu ambliopije (220).

Svrha jedne od studija, bilo je istraživanje potencijala kompjuterizovane karakterizacije MR slika prostate, kroz ekstrakciju fraktalnih osobina teksture i distribucije intenziteta, kao indeksa u diferencijalnoj dijagnozi karcinoma prostate. Sa tim ciljem su skupljene MR slike od pacijenata sa patološkim rezultatima, otkrivenih putem ultrazvukom vođene biopsije, a zatim podeljene u dve grupe (sa rakom prostate i bez histoloških abnormalnosti). Izračunate su teksturna fraktalna dimenzija (TFD) i histogram fraktalna dimenzija (HFD) u cilju analiziranja kompleksnosti karakteristika regiona od interesa (ROI), izdvojenih iz periferne zone prostate. Utvrđene su značajne razlike i u TFD i u HFD između dve grupe pacijenata. Kao što karakterišu fraktalni indeksi, kancersko prostatično tkivo pokazalo je glatkiju teksturu i nižu varijaciju distribucije intenziteta u odnosu na normalno tkivo prostate. Studija sugerise da TFD i HFD prikazuju promene u teksturi i distribuciji intenziteta, udruženih sa kancerom prostate na MR slici, kao i to da su TFD i HFD,

obežbeđujući kvantitativne indekse, obećavajući u identifikaciji kancera prostate, posebno HFD (214).

Kroz drugo istraživanje, predstavljen je novi automatizovani sistem za detekciju MR slika mozga koji je pogođen Alchajmerovom bolešću. MR slike su analizirane pomoću *multiscale analysis* (MSA), kako bi se dobili njihovi fraktali na šest različitih skala. Ekstrahovani fraktali su korišćeni kao osobine za diferenciranje MR slika zdravog mozga od onih sa Alchajmerovom bolešću. Dobijeni rezultati i vreme obrade od 5.64 sekunde, ukazuju na to da predloženi pristup može biti efikasno dijagnostičko sredstvo u skriningu za Alchajmerovu bolest (215).

Rana dijagnoza malignih tumora skriningom, omogućava sprovođenje intervencija kojima bi se smanjio mortalitet. Fraktalna analiza medicinskih slika se može iskoristiti i u te svrhe, što je pokazano u studiji gde su ispitivane MR slike zdrave jetre i jetre koja sadrži metastaze kolorektalnog karcinoma. Fraktalna dimenzija slike i *Hurst* eksponent su izabrani kao dijagnostičke osobine za tomografski *imaging*, koristeći *Image J* softverski paket za obradu slika i aplikaciju *FracLac* za fraktalnu analizu. Izračunavanje fraktalnih dimenzija patoloških i zdravih uzoraka tkiva, izvršeno je *box-counting* metodom. U patološkim slučajevima (formiranje fokusa), *Hurst* eksponent bio je manji od 0,5. Za zdravo tkivo, *Hurst* indeks je bio veći od 0,5. Studija je ukazala na mogućnost upotrebe fraktalne analize za detekciju fokalnih lezija jetre. *Hurst* eksponent se može koristiti kao važna dijagnostička karakteristika za analizu medicinskih slika (216).

Cilj druge studije bio je da se ekstrahovanjem teksturnih osobina iz MR slika, evaluira njihova korisnost u karakterizaciji molekularnih podtipova *glioblastoma multiforme* (GBM) mozga, kao i u predviđanju ukupnog 12-mesečnog preživljavanja za pacijente sa GBM. Izdvojene su regije tumora iz MR slika, kod pacijenata sa de novo GBM. Za svakog pacijenta, izvučeno je pet setova teksturnih osobina. Rezultati su pokazali da teksturne osobine jesu prediktivne za molekularne podtipove i preživljavanje kod GBM. Na taj način bi se mogla izbeći potreba za biopsijom mozga, kao invazivnom procedurom (217).

Fraktalna dimenzija (FD) može se koristiti kao mera za morfološku kompleksnost u biološkim sistemima, što je pokazano u sledećoj studiji, sa ciljem testiranja korisnosti ovog kvantitativnog parametra u kontekstu cerebralne vaskularne složenosti. Fraktalna analiza je primenjena na deset pacijenata sa cerebralnim arteriovenskim malformacijama (AVM) i deset zdravih kontrola. Poređene su fraktalne dimenzije hemisfere sa AVM i hemisfere bez AVM, što je ukazalo na to da je FD senzitivniji parametar za određivanje vaskularne složenosti. Predloženi metod može stoga služiti kao dodatni objektivni parametar, koji se može automatski proceniti i može pomoći u složenom radu AVM (218).

Metoda multifraktalne analize našla je primenu i kao kvantitativni pristup opisu mikrovaskulature normalne mrežnjače čoveka. U ovoj studiji ispitivan je set slika sa normalnim stanjima retine. Multifraktalna analiza digitalnih slika retina, učinjena je primenom standardnog *box-counting* metoda. Zaključeno je da se multifraktalna analiza slika fundusa oka može koristiti kao kvantitativni parametar za evaluaciju kompleksne strukture mikrovaskulature retine, kao potencijalni marker za rano otkrivanje promena udruženih sa bolestima retine (219).

Slično ispitivanje je sprovedeno korišćenjem multifraktalne geometrije i parametara lakunarnosti, u cilju karakterizacije arborizacije krvnih sudova retine kod čoveka, kako kod normalnih, tako i kod očiju sa ambliopijom. Multifraktalna analiza, korišćenjem *box-counting* algoritma, primenjena je na set slika sa normalnim i sa ambliopijskim stanjima retine. Zaključeno je da se ova tehnika, kao neinvazivno prediktivno sredstvo, može koristiti za razlikovanje ambliopijskih od zdravih subjekata, i na taj način, za ranu dijagnozu ambliopije (220).

Za razliku od fraktalne, multifraktalna analiza je sofisticiranija metoda. To je razlog njenog korišćenja u okviru ovog istraživanja. Takođe, omogućava smanjenje verovatnoće nastale greške, kao i isključenje subjektivnosti kao bitnog faktora.

### 1.8.6 Program ImageJ

Softver za analizu slika, pod nazivom "ImageJ", izum je Wayne Rasbanda (Wayne Rasband) iz Nacionalnog Instituta zdravlja Sjedinjenih Američkih Država, iz Betesde, države Merilend (Bethesda, Maryland). Ovaj softver je napisan u programskom jeziku "Java" i slobodno je dostupan za upotrebu (221), bilo preko online aplikacije ili download aplikacije. Može se koristiti na bilo kom računaru sa instaliranim programskim jezikom "Java 1.4", ili sa nekim od novijih verzija istog programa. Program se može preuzeti za Windows, Mac OS, Mac OS X i Linux (222,223).

Omogućen je prikaz, uređivanje, analiza, obrada, memorisanje, kao i štampa 8-bitne, 16-bitne i 32-bitne slike različitog formata (TIFF, GIF, JPEG, BMP i DICOM), upotrebom ovog, "ImageJ" programa. U okviru samog programa, dostupna je i tzv. *multithread* aplikacija, koja podržava serije slika sa jednim prozorom, pa je moguće čitanje slika istovremeno sa drugim operacijama.

Pored obrade slike standardnim funkcijama, program "ImageJ" daje mogućnost i određivanja površine, obima, faktora, oblika, itd., kao morfometrijskih pokazatelja objekta. Između označenih objekata, može dati i topološke odnose, u vidu merenja udaljenosti i uglova. Mogućnost obavljanja geometrijskih transformacija, kao što su rotacija i skaliranje, takođe je u domenu ovog programa.

Koristeći bilo koji faktor uvećanja, analize i funkcije obrada slika u svim oblicima, biće dostupne. Povećanje slike je moguće do 32:1, dok smanjenje slike ide do 1:32. Broj prozora koji se paralelno može koristiti ograničen je memorijom računara, dok sam program može podržati neograničen broj prozora istovremeno.

### 1.8.7 Program "FracLac"

Audrey Karperian, iz Charles Sturt Univerziteta iz Australije, kreirala je "FracLac" program, izrađen u programskom jeziku "Java", i to je, pored "ImageJ" (221) programa, dodatni program za

analizu digitalnih slika. Ovaj program je prilagođen, a u cilju relativno brze, istovremene obrade velikog broja slika, što je od velikog značaja za njegovu upotrebu, posebno od strane medicinskog osoblja.

"FracLac" program detektuje samo bele piksele na crnoj pozadini ili suprotno, crne piksele na beloj pozadini, a ta konverzija se automatski postiže.

Ovaj program se može upotrebiti u različite svrhe. Neke od osnovnih mogućnosti koje daje su:

1. Izračunavanje multifraktalnosti generalizovane dimenzije
2. Stvaranje raspodele, tako što koristi preko slike dobijene multiple uzorke. Korisnik ima mogućnost da podesi  $Q$  opseg vrednosti, na osnovu kojih se dobija spektar vrednosti za generalizovanu dimenziju -  $Q D$ . U prethodnom tekstu, koristili smo oznaku  $q$ , a oznaka  $Q$  koja se koristi u ovom programu, predstavlja identičnu veličinu.
3. Stvaranje grafika parametara multifraktala  $f(\alpha)$ ,  $D(Q)$ .
4. Izdvajanje parametara multifraktala (153). Ovi parametri se mogu izračunati prateći sledeće formule:

$$D_Q = \lim \left( \frac{\ln(I_{(Q,\varepsilon)})}{\ln \varepsilon^{-1}} \right) / (1 - Q) \quad (33)$$

Kombinacijom relacija (4), (5) i (6), može se izračunati relacija (33).

$\varepsilon$  = veličina boksa;  $N_\varepsilon$  = boksevi koji sadrže piksele u  $\varepsilon$  ;

$i=i$ -ti boks u  $\varepsilon$



$$I_{(Q,\varepsilon)} = \sum_{i=1}^{N_\varepsilon} P^Q(i, \varepsilon) \quad (34)$$

$$P_{(i,\varepsilon)} = \frac{\text{pikseli}_{(i,\varepsilon)}}{\sum_{i=1}^{N_\varepsilon} \text{pikseli}_{(i,\varepsilon)}} \quad (35)$$

$$\sum_{i=1}^{N_\varepsilon} P^1_{(i,\varepsilon)} = 1 \quad \sum_{i=1}^{N_\varepsilon} P^0_{(i,\varepsilon)} = N_\varepsilon \quad (36)$$

$$\tau_Q = (Q-1) \cdot D_Q \quad (37)$$

što odgovara relaciji (25).

$$\mu_{i(Q,\varepsilon)} = \frac{P_i^Q}{\sum_{l=1}^{N_\varepsilon} P_l^Q} \quad (38)$$

što odgovara relaciji (28)

$$\alpha_{(Q,\varepsilon)} = \frac{\sum_{i=1}^{N_\varepsilon} u_{i(Q,\varepsilon)} \cdot \ln P_i}{\ln \varepsilon}$$

(39)

što odgovara relaciji (31)

$$F(Q) = \frac{\sum_{i=1}^{N_\varepsilon} u_{i(Q,\varepsilon)} \cdot \ln u_{i(Q,\varepsilon)}}{\ln \varepsilon}$$

(40)

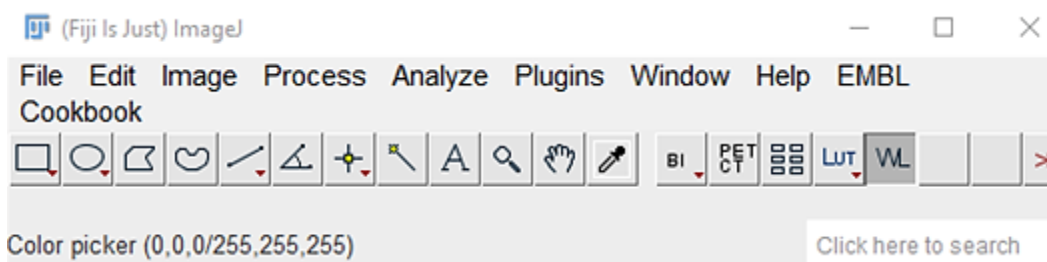
što odgovara relaciji (29)

$$F(\alpha_Q) = Q \cdot \alpha_Q - \tau_Q$$

(41)

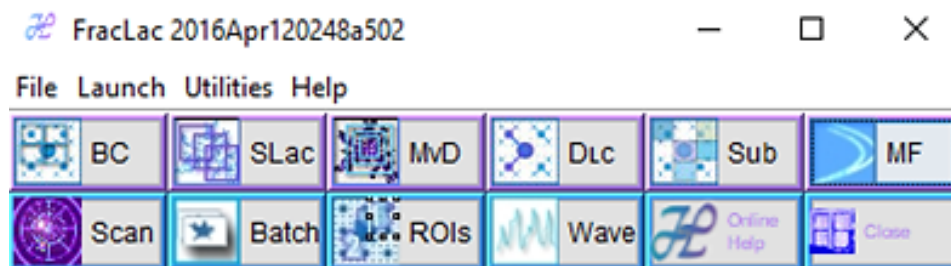
što odgovara relaciji (26)

Startovanjem “ImageJ” programa, otvara se početni meni, prikazan na slici 1. U meniju postoji stavka “Plugins” deveta FracLac plugin version 2015Marb6206 for Fiji/ImageJ. Njenim aktiviranjem, iz padajućeg menija, bira se “Fractal Analysis”.



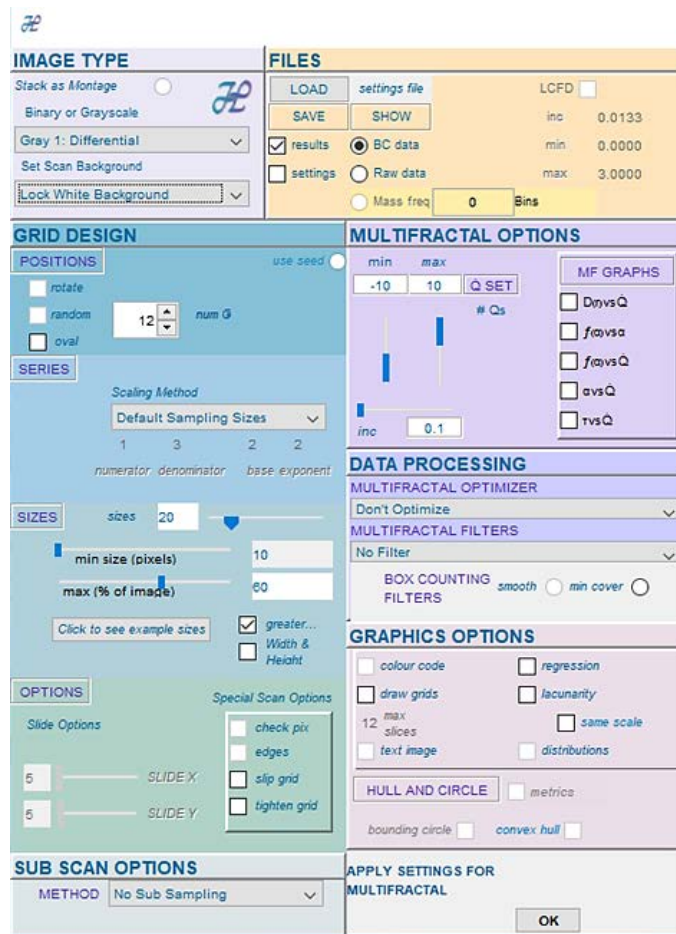
Slika 1. “ImageJ” program sa izgledom glavnog menija.

Prateći gore navedeni postupak, otvoriće se dijalog prozor programa, kao što je prikazano na na slici 2.



Slika 2. “FracLac” program sa dijalog prozorom sa opcijama za analizu.

Iz prethodno prikazanog dijalog prozora, odabirom stavke *Plan a Multifractal Analysis Scan*, dobiće se novi dijalog prozor. U njemu se vrše potrebna podešavanja parametara multifraktalne analize, što se može videti na slici 3.



Slika 3. Program FracLac sa izgledom dijalog prozora u kome se podešavaju parametri za multifraktalnu analizu.

Novi dijalog prozor u kome se vrši podešavanje veličina bokseva, otvoriće se ukoliko kliknemo na dugme "OK". Tu se zadržavaju prethodno načinjena podešavanja. U novootvorenom dijalog prozoru, klikom na "Select and Scan Files" dugme, dobiće se prozor za otvaranje direktorijuma sa ponuđenim slikama za analizu.

Za dalju statističku obradu, na ovaj način dobijenih rezultata, poslužili su parametri  $D(Q)$ ,  $Q$ ,  $\alpha$ , od kojih su naknadno formirani  $D(Q)_{min}$ ,  $Q_{max}$ ,  $f(\alpha)_{max}$ ,  $f(\alpha)_{min}$ ,  $Q$  koje odgovara  $D(Q)_{max}$ ,  $Q$  koje odgovara  $D(Q)_{min}$ ,  $\alpha_{max}$ ,  $\alpha_{min}$ ,  $\Delta\alpha$ ,  $\alpha$  koje odgovara  $f(\alpha)_{max}$ , alfa koje odgovara  $f(\alpha)_{min}$ ,  $\Delta f(\alpha)$ .

## **2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

1. Određivanje parametara multifraktalne analize snimaka magnetne rezonance primarnih koštanih tumora načinjenih inicijalno – pre sprovedene hemioterapije.
2. Određivanje parametara multifraktalne analize snimaka magnetne rezonance primarnih koštanih tumora načinjenih nakon primenjene indukcione hemioterapije
3. Određivanje razlike parametara multifraktalne analize snimaka magnetne rezonance primarnih koštanih tumora načinjenih inicijalno i nakon sprovedene hemioterapije
4. Poređenje dobijenih parametara multifraktalne analize nakon sprovedene hemioterapije sa patohistološkom dijagnozom stepena tumorske nekroze klasifikovane po Huvos grading sistemu.

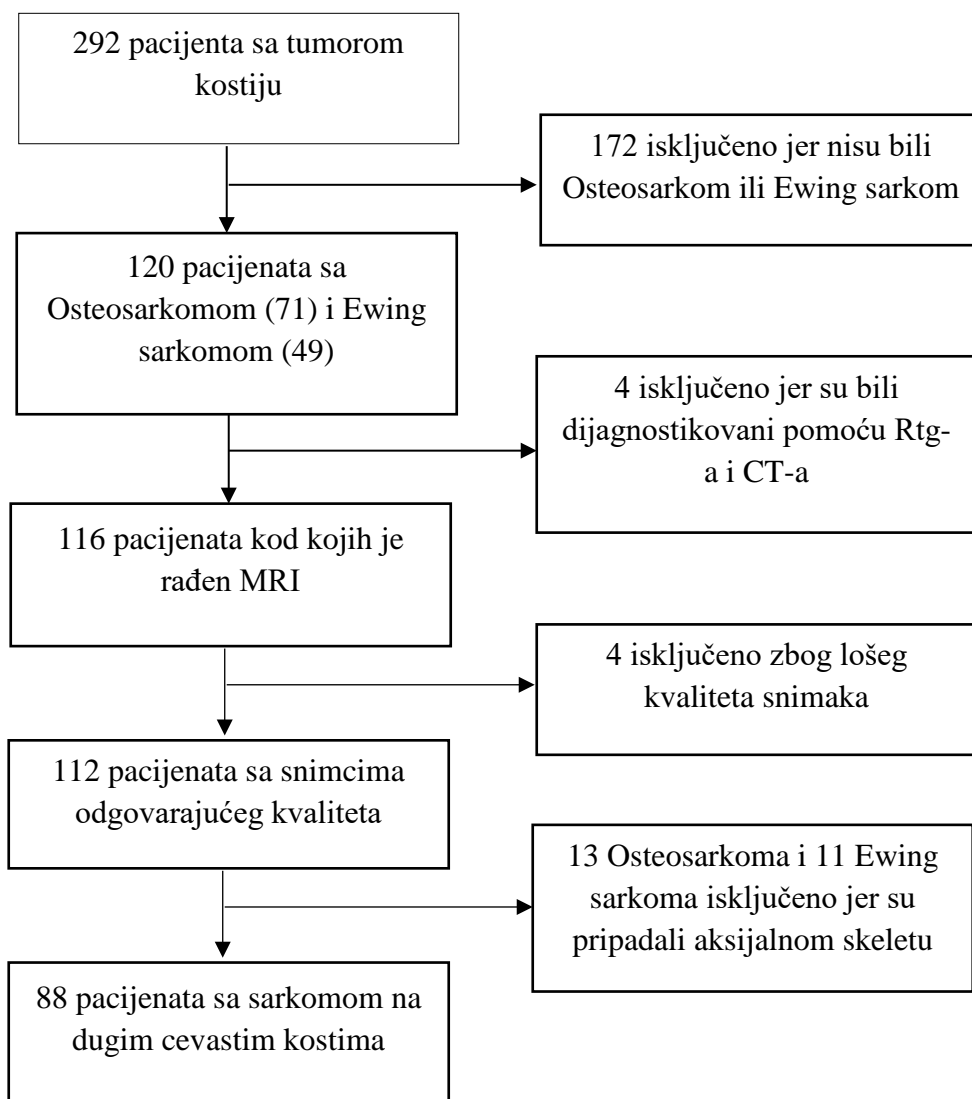
### **3. METODOLOGIJA**

Istraživanje je koncipirano kao studija preseka i obuhvata sve obolele od OSE i ESA dugih cevastih kostiju, koji su dijagnostikovani i lečenih od strane Nacionalnog sarkoma konzilijuma u periodu od pet godina (2010.-2014.), unutar IOHB „Banjica“, Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije i Institutu za patologiju Medicinskog fakulteta, gde je i postavljena dijagnoza primarne koštane neoplazme.

Kod 292 pacijenata sa bolom u sektoru skeleta u period od 2010. do 2014. godine. je urađena radiološka dijagnostika gde je utvrđeno prisustvo tumorske lezije. Nakon učinjene biopsije histopatološki (HP) je kod 71 pacijenta postavljena dijagnoza OSA, kod 49 ESA, dok su kod 172 bili ostali dijagnostikovani ostali tipovi tumora u bolnoj regiji. Od 120 pacijenata sa dijagnozom OSA i ESA od radiološke dijagnostike Rtg je prethodio biopsiji kod jednog pacijenata, CT je prethodio biopsiji kod tri pacijenta, a MRI je urađen kod 116 pacijenata od čega su njih 4 isključeni iz dalje analize zbog snimaka lošeg kvaliteta usled prisustva artefakata. Izdvojeno je 112 pacijenata sa OSA i ESA na dugim cevastim kostima. Od 67 pacijenata sa MRI prikazom OSA njih 13, a od 45 sa prikazom ESA njih 11 je svojom lokalizacijom pripadalo aksijalnom skeletu. Za dalju analizu snimaka izdvojeno je 88 pacijenata sa tumorom na dugim cevastim kostima kod kojih je bila moguća naknadna precizna obrada MRI slike.

Kod svih 88 pacijenata urađeni su inicijalni nativni i postkontrastni snimci MRI koji su potvrdili prisustvo i ekstenzivnost tumorske formacije. Po sprovedenoj indukcionoj hemioterapiji u skladu sa protokolom za lečenje u naredne 3-4 nedelje urađen je „*follow up MRI*“ kontrolni pregled magnetnom rezonancom.





**Grafikon 1.** Selekcija pacijenata za ulazak u studiju.

Za svakog pacijenta prikupljeni su podaci o polu, starosti, lokalizaciji tumora u odnosu na ekstremitet kao i sektor obolele kosti (epifiza, metafiza, dijafiza), prisustvo patološke frakture, metastatske bolesti.

Analiza serija MR snimaka obolelih od OSA i ESA rađena je na dijagnostičkoj radnoj stanici primenom softverskog paketa *KODAK CRESTREM PACS Client Suite version 10.2*. Ovim postupkom korišćenjem navedenog softverskog alata digitalni MR snimci su prevedeni u digitalnu sliku rezolucije 1400 x 1054 pixela sive skale. Naknadnom upotrebom „crop tool“-a isecanjem delova slike izdvojiće se prikazana tumorska formacija koja je uobičajeno predmet interesa radiološke analize.

Analizirani su morfologija i signalne karakteristike tumorskog tkiva prikazanog sa konvencionalnim, nativnim i postkontrastnim MR snimcima u transverzalnoj (TRA), koronarnoj (COR) i sagitalnoj (SAG) ravni u T1W, T2W, primenom TSE i FS sekvenci.

Izmerena je veličina tumora pre i nakon sprovedene indukcionne hemioterapije na reprezentativnim snimcima gde se prikazuju najvećim dijametrom.

Pre i nakon sprovedene indukcionne hemioterapije izračunat je volumen tumora, kao i njegova maksimalnu površinu.

Prikazani tumor je analiziran kao elipsoidna formacija:

- Za procenu volumena tumora korišćena je formula:  
**Volume =  $\frac{4}{3} \times \pi \times abc$**  (gde je a = dužina/2, b = širina/2, c = debljina/2)
- Za izračunavanje maksimalne površine tumora korišćena je COR ravan i formula za elipsu **P=  $\pi \times ab$**  (gde je a = dužina/2, b = širina/2).

Slike tumorskog tkiva su naknadno opsećene uz pomoć *Fiji / ImageJ softver* (222), kako bi se izolovalo područje od interesa- *regions of interest* (ROIs) u skladu s granicama svakog pojedinačnog tumora. Veličina ROI-a odražavala je stvarne varijacije dimenzija tumora

(223). Takva vrsta obrade slike je korišćena za dobijanje optimalno usporedivih i relevantnih detalja slike za MFA.

Sa MRI snimaka iskropovano je po 9 slika (3 iz TRA, 3 iz COR i 3 iz SAG ravni) , za svakog pacijenta pre i po 9 slika nakon sprovedene indukcionne hemioterapije što je činilo 1584 slike. Svojom kvalitetom 528 slika, nisu odgovarale za dalju MFA, tako da je konačan broj slika iznosio 1056. U daljoj pripremi slika za MFA izvršena je transformacija svih fajlova u *8-bit greyscale format* uz pomoć seta instrukcija (*macro*) unutar *Fiji / ImageJ* (222) programa i dobijeno je 1056 1GBe slika što se može videti na slici 4.



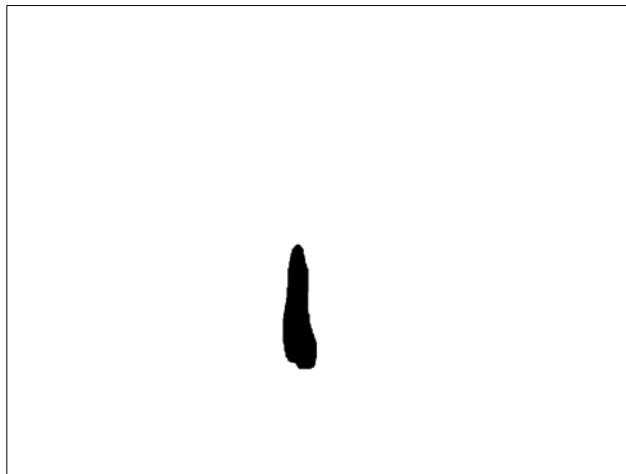
Slika 4. 1GBe slika *8-bit greyscale format* (slika sive skale na beloj pozadini)

Nakon toga izvršeno je pretvaranje crnih (0) pozadinskih pixela u bele (255) i formiranje 1056 slika 2GW što se može videti na slici 5.



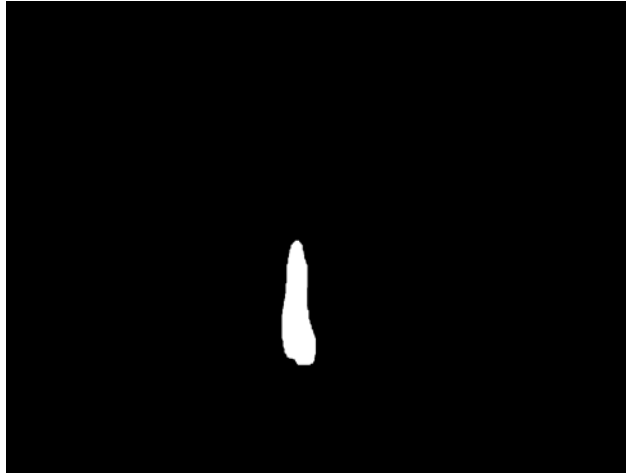
Slika 5. 2GW slika sive skale na beloј pozadini

U daljem postupku obrade usledila je binarizacija slika i “*flood filling*” tumora (popunjavanje crnim pikselima) sa formiranjem 1056 3BWe slika sto se moze videti na slici 6.



Slika 6. 3BWe binarna slika popunjena crnim pikselima

Ovome sledi inverzija binarnih slika sa formiranjem 1056 4 BBe slika.



Slika 7. 4 BBe inverzna binarna slika

Celokupnim postupkom analize dobijenih digitalnih slika oformljena je baza od 4224 slike, na kojima su računati MF parametri. Različita površina prikazanog tumora na slici za analizu uslovljena je odabirom reprezentativnog preseka u određenoj ravni (COR, TRA, SAG), što je zahtevalo računanje normalizacionih koeficijenata. Koreckija za različitu površinu tumora je izvršena kvocijentom dobijenim od slika 2GW/1GBe, tako sto se svaki parametar za sliku gde je tumor siv deli sa istom slikom gde je pozadina crna. Ovime je oformljena baza od 2112 slika na kojima su upotrebom *Fiji / ImageJ* programa sa *Frac Lac* softverskom analizom računati MF parameteri.

U završnoj fazi izračunavanja MF parametara korišćeno je 1056 2GW slika i 1056 2GW/1GBe, ukupno 2112 slika.

Dobijeni rezultati dovođeni su u korelaciju sa uzorcima tkiva tumora koji su obrađeni u laboratoriji Instituta za patologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, gde je izvršeno njihovo kalupljenje, sečenje i bojenje preparata radi postavljanja patohistološke dijagnoze, histološkog gradus, podtipa tumora, kao i određivanje stepena tumorske nekroze.

Pacijenti kod kojih je ostvaren stepen tumorke nekroze ( $\geq 90\%$ ) smatraju se “*good responders*” sa dobrim odgovorom , a oni sa manje od 90% nekroze “*poor responders*” sa lošim odgovorom.

## Statistička analiza podataka

U cilju analize prikupljenih podataka u ovom istraživanju korišćene su metode deskriptivne i analitičke statistike. U cilju deskriptivne analize podataka, numerička obeležja posmatranja predstavljena su merama centralne tendencije (aritmetička sredina i medijana) i merama varijabiliteta (interval varijacije, standardna varijacija i interkvartilni opseg), dok su se za kvalitativna obeležja posmatranja koristili apsolutni i relativni brojevi. Normalnost raspodele kontinuiranih numeričkih varijabli testirana je pomoću Kolomogorov-Smirnov testa.

Od metoda analitičke statistike korišćeni su testovi razlike i analiza povezanosti.

Testovi za ispitivanje značajnosti razlike koji su se koristili u studiji su:

- Studentov T-test za procenu značajnosti razlike kontinuiranih varijabli koja prate normalnu raspodelu,
- Mann Whitney-U test za procenu značajnosti razlike kontinuiranih varijabli koje odstupaju od normalne raspodele,
- Pirsonov  $\chi^2$  test и Fišerov (exact) test za poređenje razlike u učestalosti atributivnih obeležja posmatranja,
- T-test za zavisne uzorke i Vilkoksonov test ekvivalentnih parova za poređenje parametara snimaka pre i nakon terapije,
- Analiza kovarijanse (ANKOVA) za poređenje parametara slika pre i posle terapije kod više grupa pacijenata (odgovor na terapiju, sektor skeleta i tip sarkoma).

Za ispitivanje povezanosti kliničkih karakteristika i parametara snimaka kao nezavisnih varijabli i odgovora na terapiju kao zavisne varijable, korišćena je logistička regresiona analiza. Prvo je sprovedena univarijantna logistička regresiona analiza i varijable koje su u univarijantnoj analizi dostigle statističku značajnost ( $p < 0,1$ ) uključene su u

multivarijantne regresione modele. Unakrsni odnosi (ORs-odds ratios) sa 95% intervalom poverenja računati su u logističkoj regresiji kao mera stepena povezanosti.

Radi utvrđivanja prognostičkog značaja parametara snimaka u predviđanju ishoda terapije, konstruisane su ROC krive (*engl.* Receiver operating curve) i izračunate površine ispod krive (*engl.* Area under the curve – AUC). Površina ispod ROC krive (AUC) predstavlja zbirnu meru dijagnostičke tačnosti testa. Kada test nema dijagnostičku vrednost ROC kriva se poklapa sa dijagonalnom linijom, a površina ispod krive je jednaka 0,5. Sa porastom dijagnostičke vrednosti, ROC kriva se udaljava od dijagonalne linije i površina ispod krive se približava jedinici. Tako se za vrednost AUC od 0,5-0,6 smatra da nema diskriminativnu moć, AUC 0,6-0,7 predstavlja lošu diskriminativnu moć, AUC 0,7-0,8 predstavlja prihvatljivu diskriminativnu moć, AUC 0,8-0,9 odličnu diskriminativnu moć i AUC 0,9-1,0 izvanrednu diskriminativnu moć. Radi određivanja optimalnih graničnih (*cut-off*) vrednosti parametara snimaka, odnosno granične vrednosti koje sa najboljim odnosom senzitivnosti i specifičnosti predviđaju ishoda lečenja, korišćen je Youden indeks (224). Za svaku graničnu vrednost računati su senzitivnost (Se), specifičnost (Sp), pozitivna prediktivna vrednost (PPV), negativna prediktivna vrednost (NPV), pozitivan odnos verodostojnosti (LR+) i negativan odnos verodostojnosti (LR-).

Zbog malog broja jedinica posmatranja u nekim testovima korišćena je Monte Karlo simulacija radi dobijanja tačne vrednosti. Dobijeni rezultati prikazani su tabelarno i grafički. Statistička obrada podataka vršena je pomoću SPSS-20.0 programskog statističkog paketa (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Korišćen je nivo statističke značajnosti  $p < 0,05$ .

## **4. REZULTATI**



## 4.1. Deskripcija populacije

### 4.1.1. Socio-demografske karakteristike pacijenata

Demografske karakteristike pacijenata prikazane su u tabeli 1. Prosečna starost studijske populacije bila je  $17,0 \pm 9,1$  godina i sa većim procentualnim učešćem osoba mlađih od 18 godina (67,0%). Većina pacijenata je bila muškog pola (67,0%) i odnos muškog i ženskog pola bio je 2:1.

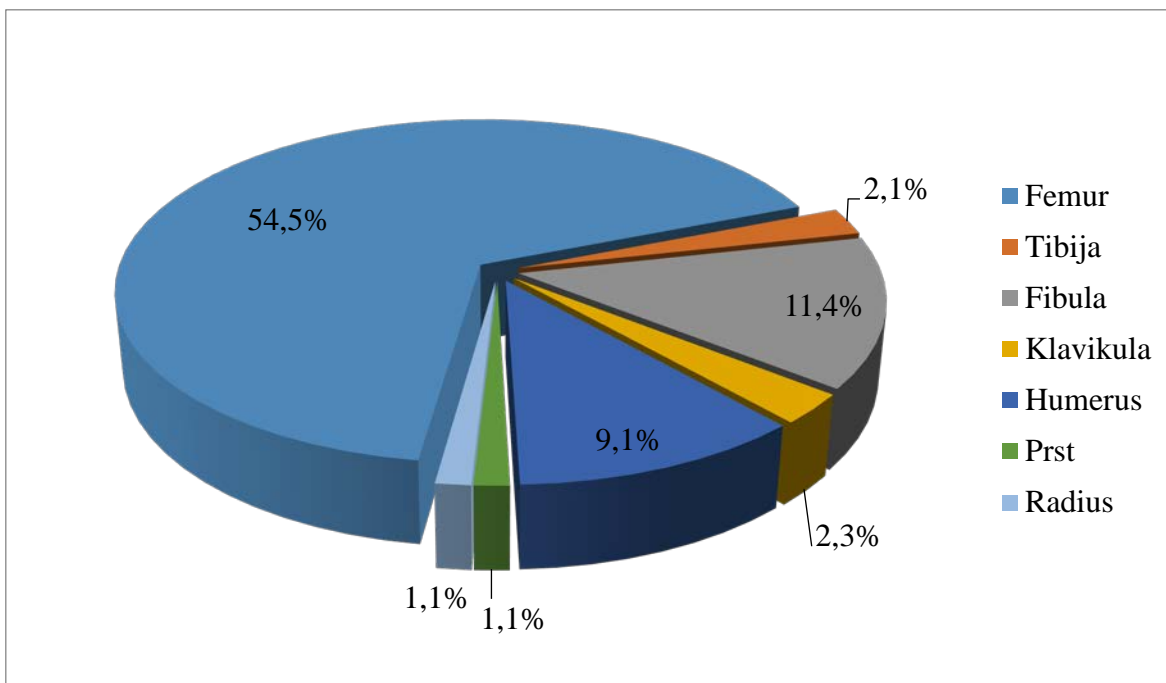
**Tabela 1.** Demografske karakteristike pacijenata

	n (%)
<b>Starost*</b>	17,0 ± 9,1
< 18 godina	59 (67,0)
≥ 18 godina	29 (33,0)
<b>Pol</b>	
Muško	59 (67,0)
Žensko	29 (33,0)

\*Srednja vrednost ± SD

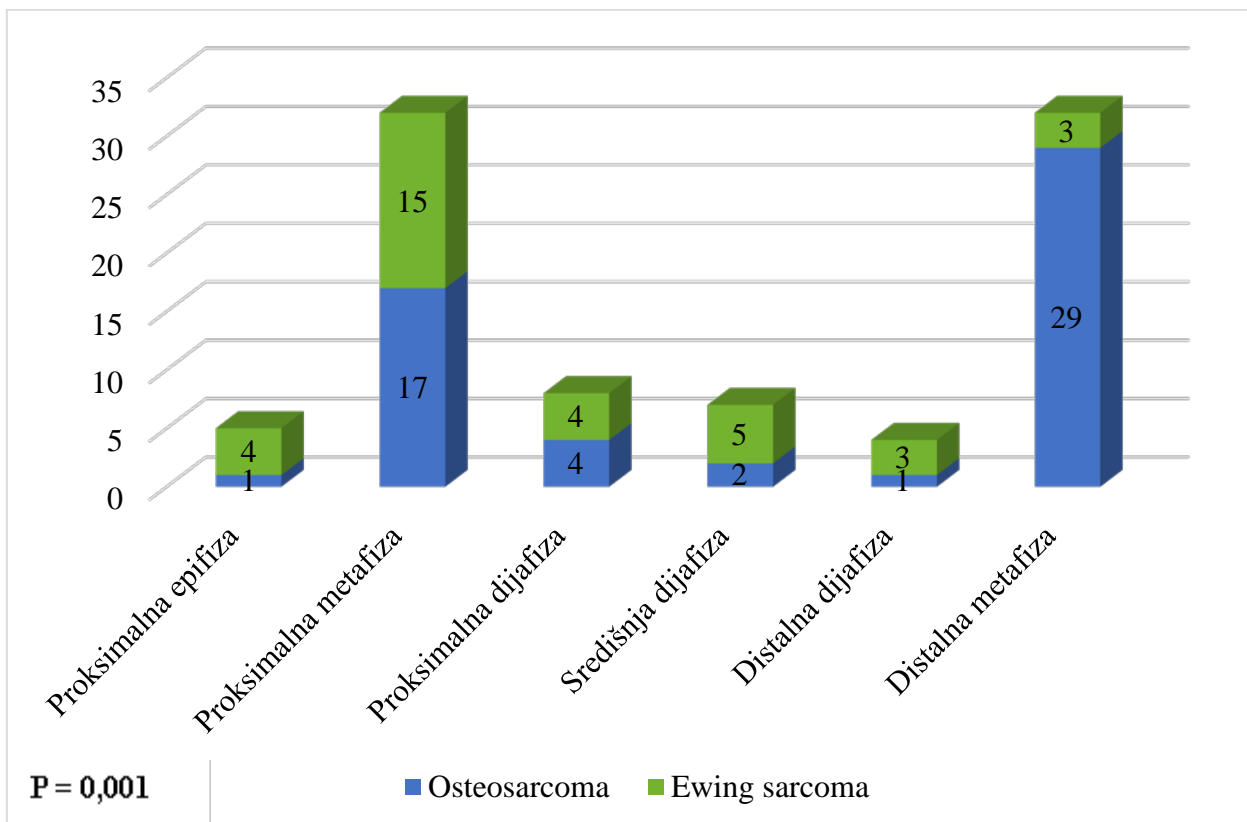
### 4.1.2. Karakteristike vezane za tip i lokalizaciju sarkoma

U tabeli 2 sumirane su karakteristike sarkoma vezane za tip, lokalizaciju i metastaze. Većina pacijenata u ovoj studiji imala je *Osteosarcoma (OSA)* (61,5%) dok je *Ewing sarcoma (ESA)* bio dijagnostikovao kod 38,5% pacijenata. Najčešća lokalizacija OSA bio je femur (54,5%), zatim tibija (20,5%) i fibula (11,4%) čineći skoro 70% svih tumorskih lokalizacija (grafikon 2).



**Grafikon 2.** Distribucija sarkoma u odnosu na lokalizaciju

Uzimajući u obzir sektor cevastih kostiju, sarkomi su najčešće bili lokalizovani na proksimalnoj metafizi i distalnoj metafizi (36,4% oba) dok je distalna dijafiza bila najređe zahvaćena (4,5%). Međutim, postojala je statistički značajna razlika u sektoru skeleta koji je zahvaćen sarkomom kod osoba sa OSA i ESA. Naime, osteosarkom je najčešće bio lokalizovan u distalnoj metafizi (53,7% svih osteosarkoma) i proksimalnoj metafizi (31,5% OSA) dok je ESA sarkom najčešće bio dijagnostikovao u proksimalnoj metafizi (44,1% svih ESA) (grafikon 2).



**Grafikon 3.** Sektor skeleta u odnosu na tip sarkoma.

#### 4.1.3. Klinička manifestacija i stadijum bolesti

Patološku frakturu imalo je 6 pacijenata (6,8%) dok su metastaze otkrivene kod 28 (31,8%) pacijenata od kojih je 19 (21,6%) imalo metastaze inicijalno a 9 (10,2%) pacijenata je dobilo metastaze u toku lečenja (tabela 2). Najčešća lokalizacija metastaza bila su pluća (78,6%) dok je u kosti i mozak metastaziralo 17,8% i 3,6% sarkoma.

**Tabela 2.** Karakteristike sarkoma

<b>Karakteristika</b>	<b>n (%)</b>
<b>Tip sarkoma</b>	
Osteosarcoma	54 (61,5)
Ewing sarcoma	34 (38,5)
<b>Kost</b>	
Femur	48 (54,5)
Tibija	18 (20,5)
Fibula	10 (11,4)
Klavikula	2 (2,3)
Humerus	8 (9,1)
Prst	1 (1,1)
Radijus	1 (1,1)
<b>Sektor skeleta</b>	
Proksimalna epifiza	5 (5,7)
Proksimalna metafiza	32 (36,4)
Proksimalna dijafiza	8 (9,1)
Središnja dijafiza	7 (8,0)
Distalna dijafiza	4 (4,5)
Distalna metafiza	32 (36,4)
<b>Patološka fraktura</b>	
Ima	6 (6,8)
Nema	82 (93,2)
<b>Metastaze</b>	
Nema	60 (68,2)
Ima inicijalno	19 (21,6)
Ima tokom terapije	9 (10,2)
<b>Lokalizacija metastaza</b>	
Pluća	22 (78,6)
Kosti	5 (17,8)
Mozak	1 (3,6)

## 4.2. Odgovor na terapiju

Od 88 pacijenata kod kojih je dijagnostikovano sarkom, nakon terapije 37 (42,0%) njih je imalo stepen tumorske nekroze veći od 90% odnosno dobro je odgovorilo na terapiju, dok je 51 (58%) pacijent loše reagovao na terapiju sa stepenom tumorske nekroze manjim od 90%.

Karakteristike pacijenata koji su dobro odgovorili na terapiju i onih koji su loše odgovorili prikazane su u tabeli 3. Nije uočena statistički značajna razlika u godinama i polu između ove dve grupe pacijenata.

**Tabela 3.** Demografske karakteristike u odnosu na odgovor na terapiju

	<b>Dobar</b> n=37	<b>Loš</b> n=51	<b>P</b>
<b>Starost*</b>	16,3 ± 9,7	17,5 ± 8,6	0,561
< 18 godina	27 (73,0)	32 (62,7)	0,314
≥ 18 godina	10 (27,0)	19 (37,3)	
<b>Pol</b>			
Muško	26 (70,3)	33 (64,7)	0,584
Žensko	11 (29,7)	18 (35,3)	

\*Srednja vrednost ± SD

Karakteristike sarkoma vezane za tip, lokalizaciju i metastaze sarkoma poređene su kod pacijenata sa dobrim odgovorom na terapiju i onih sa lošim odgovorom a rezultati su prikazani u tabeli 4. Pacijenti koji su loše odreagovali na terapiju su u značajno većem procentu bili pacijenti sa osteosarkomom (76,5%), dok je u grupi pacijenata koji su dobro odgovorili na terapiju bilo više onih sa ESA (59,5% vs. 40,5%) ( $p = 0,001$ ).

Lokalizacija sarkoma u proksimalnoj metafizi je značajno češće rezultirala dobrim odgovorom na terapiju (56,8%) dok je sarkom u distalnoj metafizi u većem procentu loše odgovarao na terapiju (51,0%,  $p = 0,002$ ) (tabela 4). Nije bilo statistički značajne razlike u

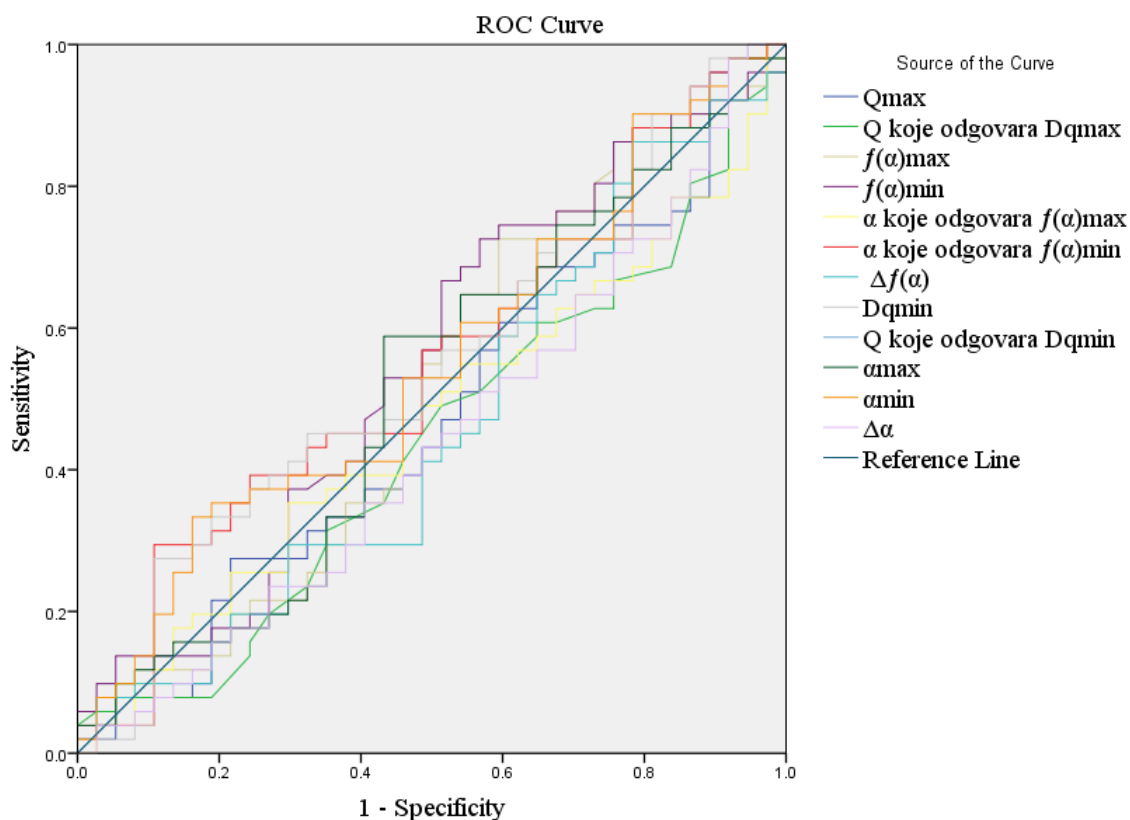
odnosu na lokalizaciju kosti, patološke frakture, metastaze kao ni dužinu prisustva bola kod ove dve grupe pacijenata.

**Tabela 4.** Karakteristike sarkoma u odnosu na odgovor na terapiju

	<b>Dobar</b> n=37	<b>Loš</b> n=51	P
<b>Tip sarkoma</b>			
<i>Osteosarcoma</i>	15 (40,5)	39 (76,5)	<b>0,001</b>
<i>Ewing sarcoma</i>	22 (59,5)	12 (23,5)	
<b>Kost</b>			
Femur	18 (48,6)	30 (58,8)	0,418
Tibija	10 (27,0)	8 (15,7)	
Fibula	4 (10,8)	6 (11,8)	
Klavikula	2 (5,4)	0 (0,0)	
Humerus	3 (8,1)	5 (9,8)	
Falanga	0 (0,0)	1 (2,0)	
Radius	0 (0,0)	1 (2,0)	
<b>Sektor skeleta</b>			
Proksimalna epifiza	0 (0,0)	5 (9,8)	<b>0,002</b>
Proksimalna metafiza	21 (56,8)	11 (21,6)	
Proksimalna dijafiza	4 (10,8)	4 (7,8)	
Središnja dijafiza	4 (10,8)	3 (5,9)	
Distalna dijafiza	2 (5,4)	2 (3,9)	
Distalna metafiza	6 (16,2)	26 (51,0)	
<b>Patološka fraktura</b>	4 (10,8)	2 (3,9)	0,234
<b>Metastaze</b>			
Nema	26 (70,3)	33 (64,7)	0,768
Ima inicijalno	7 (18,9)	13 (25,5)	
Ima tokom terapije	4 (10,8)	5 (9,8)	
<b>Lokalizacija metastaza</b>			
Nema	27 (73,0)	33 (64,7)	0,467
Pluća	7 (18,9)	15 (29,4)	
Kosti	3 (8,1)	2 (3,9)	
Mozak	0 (0,0)	1 (2,0)	
<b>Dužina prisustva bola</b>	3,0 ± 2,0	3,0 ± 1,4	0,469

### 4.3. Prognošička vrednost parametara slika u predikciji odgovora na terapiju

Prediktivna vrednost parametara slika, tj, njihova sposobnost da pravilno diskriminišu dobar i loš odgovor na terapiju ispitivana je pomoću *receiver operating curve* (ROC) krive i površina ispod ROC krive (AUC) (grafikon 4). C statistika odnosno vrednosti površina ispod kriva sa 95% intervalom poverenja (95%CI) za parametre GW snimaka prikazane su u tabeli 8. Nijedan parametar slika GW napravljenog pre terapije nije pokazao statistički značajnu moć diskriminacije dobrog i lošeg odgovora na terapiju jer su se površine ispod ROC kriva bile približno jednake 0,5 sa  $p$  vrednošću  $\geq 0,05$ .



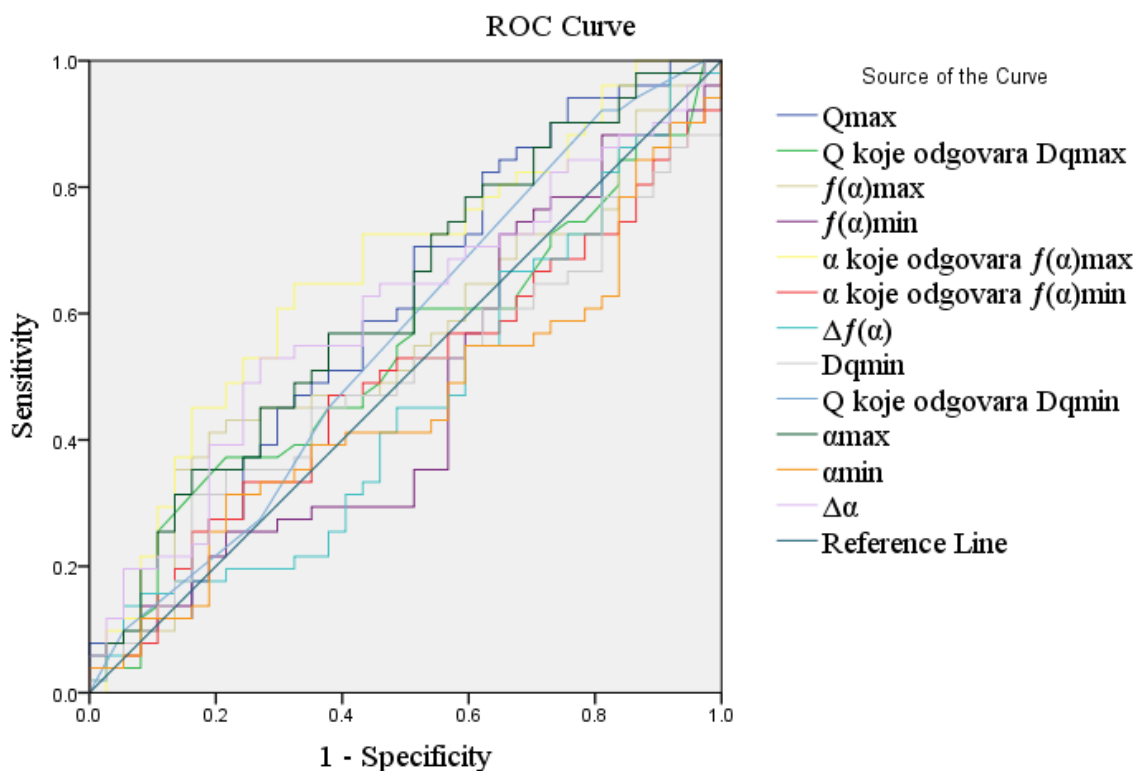
**Grafikon 4.** ROC krive za parametre slike GW u predikciji lošeg odgovora na terapiju.

**Tabela 8.** Površine ispod ROC krive za parametre slike GW u predikciji lošeg odgovora na terapiju

	AUC	95%CI	P vrednost
Qmax	0,474	0,351-0,589	0,682
Q koje odgovara Dqmax	0,438	0,316-0,559	0,321
$f(\alpha)$ max	0,510	0,384-0,635	0,879
$f(\alpha)$ min	0,545	0,421-0,669	0,475
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ max	0,466	0,345-0,587	0,586
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ min	0,548	0,426-0,670	0,444
$\Delta f(\alpha)$	0,460	0,336-0,584	0,523
Dqmin	0,454	0,423-0,668	0,470
Q koje odgovara Dqmin	0,500	0,377-0,623	1,000
$\alpha$ max	0,511	0,386-0,636	0,856
$\alpha$ min	0,547	0,425-0,669	0,449
$\Delta\alpha$	0,440	0,317-0,562	0,337

Vrednosti površina ispod kriva sa 95% intervalom poverenja (95%CI) za parametre kvocijent 2GW/1GBe slika načinjene pre terapije prikazane su u tabeli 9. ROC krive za navedene parametre prikazane su na grafikonu 5. Od svih parametara slike jedino  $\alpha$  koje odgovara  $f(\alpha)$ max je pokazao značajnu prediktivnu moć u diskriminaciji dobrog i lošeg odgovora na terapiju ( $p = 0,008$ ). Površina ispod ROC krive za ovaj parameter iznosila je 0,666 pokazujući, iako statistički značajnu, slabu moć diskriminacije (AUC 0,6-0,7). ROC kriva koja pokazuje disriminativnu moć prametra  $\alpha$  koje odgovara  $f(\alpha)$ max sa GW slika u predikciji lošeg odgovora na terapiju prikazana je na grafikonu 6.

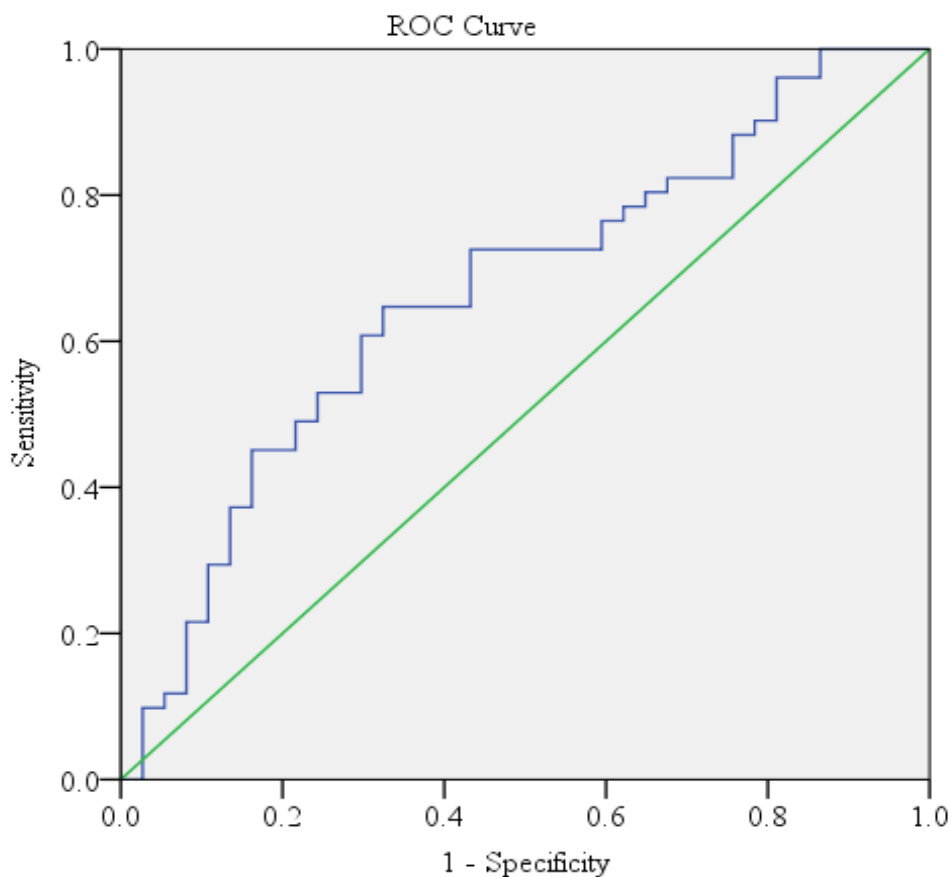




**Grafikon 5.** ROC krive za parametre slike kvocijent 2GW/1GBe u predikciji lošeg odgovora na terapiju.

**Tabela 9.** Površine ispod ROC kriva za parametre slike kvocijent 2GW/1GBe slika u predikciji lošeg odgovora na terapiju

	AUC	95%CI	P vrednost
Qmax	0,599	0,477-0,722	0,113
Q koje odgovara Dqmax	0,533	0,411-0,654	0,600
$f(\alpha)$ max	0,547	0,425-0,669	0,453
$f(\alpha)$ min	0,471	0,346-0,596	0,645
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ max	0,666	0,551-0,781	<b>0,008</b>
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ min	0,490	0,368-0,611	0,869
$\Delta f(\alpha)$	0,461	0,337-0,585	0,534
Dqmin	0,491	0,370-0,612	0,889
Q koje odgovara Dqmin	0,561	0,438-0,684	0,331
$\alpha$ max	0,617	0,498-0,736	0,061
$\alpha$ min	0,452	0,330-0,573	0,439
$\Delta\alpha$	0,600	0,481-0,719	0,111



**Grafikon 6.** ROC (Receiver operating curve) kriva za  $\alpha$  koje odgovara  $f(\alpha)_{\max}$  kvocijent 2GW/1GBe slike u predikciji lošeg odgovora na terapiju.

Optimalna granična (*cut off*) vrednost  $\alpha$  koje odgovara  $f(\alpha)_{\max}$  i njegove prediktivne sposobnosti u prognozi lošeg odgovora na terapiju procenjeni su pomoću Youden indeksa. Granična vrednost kao i senitivnost ( $S_n$ ), specifičnost ( $S_p$ ), pozitivna i negativna prediktivna vrednost (PPN i NPV) i pozitivan i negativan odnos verodostojnosti ( $LR+$  i  $LR-$ ) za izračunatu graničnu vrednost prikazani su u tabeli 10. Vrednost parametra  $\alpha$  koje odgovara  $f(\alpha)_{\max}$  kvocijent 2/1 snimka veća od 1,0272 predstavlja optimalnu graničnu vrednost u predikciji lošeg odgovora na terapiju, sa senitivnošću 64,71% i specifičnošću 67,57%. Vrednosti pozitivnog odnosa verodostojnosti ( $LR+$ ) od 2,00 i negativnog odnosa

verodostojnosti (LR-) od 0,52 ukazuju na malu sposobnost promene pre-test verovatnoće pozitivnog i negativnog testa.

**Tabela 10.** Prediktivna vrednost  $\alpha$  koje odgovara  $f(\alpha)$ max kvocijent 2GW/1GBe slika u diskriminaciji dobrog i lošeg odgovora na terapiju

Granična vrednost	Se (%)	Sp (%)	LR+	LR-	PPV (%)	NPV (%)
> 1,0272	64,71	67,57	2,00	0,52	73,33	58,14

## 4.4. Nezavisni prediktori lošeg terapijskog odgovora

### 4.4.1. Klinički prediktori lošeg odgovora na terapiju

Univarijantnom regresionom analizom utvrđeno je da je tip sarkoma povezan sa lošim odgovorom na terapiju. OSA je bio faktor rizika za loš odgovor na terapiju (OR = 4,77, 95% CI = 1,90-11,98,  $p = 0,001$ ) tj., pacijenti koji su imali osteosarkom imali su 4,8 puta veću šansu da loše odgovore na terapiju.

**Tabela 11.** Univarijantna logistička regresiona analiza prediktora lošeg terapijskog odgovora

	<b>OR</b>	<b>95%CI</b>	<b>P</b>
<b>Pol</b>			
Muško	0,78	0,31-1,93	0,584
Žensko	Ref	ref	Ref
<b>Starost</b>	1,02	0,97-1,07	0,558
<b>Tip sarkoma</b>			
Osteosarcoma	4,77	1,90-11,98	<b>0,001</b>
Ewing sarcoma	Ref	ref	Ref
<b>Kost</b>	1,01	0,75-1,37	0,279
<b>Sektor skeleta</b>	/	/	/
<b>Dužina prisustva bola</b>	1,01	0,78-1,30	0,957
<b>Patološka fraktura</b>	0,34	0,58-1,95	0,224
<b>Metastaze</b>			
Nema	Ref	ref	Ref
Ima inicijalno	1,77	0,59-5,29	0,305
Ima tokom terapije	1,02	0,25-4,19	0,975
<b>Lokalizacija metastaza</b>			
Nema	Ref	ref	ref
Pluća	1,75	0,63-4,92	0,286
Kosti	0,55	0,09-3,50	0,523
Mozak	/	/	/

#### 4.4.2. Parametri slika pre terapije kao nezavisni prediktori lošeg odgovora na terapiju

Za određivanje nezavisnih prediktora lošeg terapijskog odgovora među parametrima slika GW i kvocijent 2GW/1GBE slika prvo je urađena univarijantna analiza i parametri koji su pokazali značajnu povezanost na nivou  $p < 0,1$  uključeni su u multivarijantni logistički regresioni model. Za sve modele računata je i korigovana  $p$  vrednost, korigovana za pol, uzrast i kliničke parametre koji su se pokazali značajni u predikciji lošeg odgovora na terapiju (tip sarkoma).

Rezultati univarijantne logističke analize parametara slika GW i kvocijent 2GW/1GBE slika prikazani su u tabelama 12 i 13. Dok nijedan parameter GW slike nije bio povezan sa lošim odgovorom na terapiju u univarijantnoj logističkoj regresiji, parametri  $\alpha$  koje odgovara  $f(\alpha)$ max (OR = 7,21, 95%CI = 1,71-16,10,  $p = 0,026$ ) i  $\Delta\alpha$  (OR = 0,02, 95%CI = 0,16-28,58,  $p = 0,066$ ) kvocijent 2GW/1GBE slika pokazali su se kao prediktori lošeg odgovora sarkoma na terapiju.

**Tabela 12.** Univarijantna logistička regresija parametara slika GW u predikciji lošeg terapijskog odgovora

	OR	95%CI	P
Qmax	0,19	0,00-5631,30	0,751
Q koje odgovara Dqmax	0,25	0,02-3,28	0,291
$f(\alpha)$ max	3,09	0,00-3783819,08	0,875
$f(\alpha)$ min	2,94	0,06-149,04	0,590
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ max	0,85	0,20-3,61	0,827
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ min	13,69	0,04-4892,06	0,383
$\Delta f(\alpha)$	0,42	0,01-16,76	0,642
Dqmin	15,40	0,040-6145,14	0,371
Q koje odgovara Dqmin	/	/	/
$\alpha$ max	6,52	0,00-353282,65	0,736
$\alpha$ min	15,40	0,05-4963,02	0,353
$\Delta\alpha$	0,10	0,00-36,04	0,444

**Tabela13.** Slika kvocijent 2GW/1GBe -Univarijantna logistička regresija prediktora terapijskog odgovora

	OR	95%CI	P
Qmax	/	/	/
Q koje odgovara Dqmax	1,31	0,72-2,39	0,385
$f(\alpha)$ max	615,92	0,00-/-	0,758
$f(\alpha)$ min	0,83	0,13-5,38	0,847
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ max	7,21	1,71-16,10	<b>0,026</b>
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ min	0,32	0,00-1033575,42	0,880
$\Delta f(\alpha)$	0,59	0,00-210,43	0,862
Dqmin	0,12	0,00-1077432,66	0,793
Q koje odgovara Dqmin	1,04	0,97-1,12	0,304
$\alpha$ max	/	/	/
$\alpha$ min	0,01	0,00-15575,01	0,501
$\Delta\alpha$	12,02	0,16-28,58	<b>0,066</b>

Kliničke karakteristike sarkoma i parametri snimaka koji su bili statistički značajno povezani sa ishodom lečenja u univarijantnoj logističkoj regresiji uneti su u multivarijantni logistički regresioni model u kome se  $\alpha$  koje odgovara  $f(\alpha)$ max izdvojio kao jedini faktor nezavisno povezan sa lošim odgovorom na terapiju (OR = 6,18; 95%CI = 1,89-15,59;  $p = 0,035$ ).

**Tabela 14.** Multivarijantna logistička regresija prediktora terapijskog odgovora

	OR	95%CI	P
Tip sarkoma			
Osteosarcoma	3,16	0,85 – 11,70	0,068
Ewing sarcoma	Ref	ref	Ref
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ max	6,18	1,89 – 15,59	<b>0,035</b>
$\Delta\alpha$	10,62	4,70 – 34,08	0,193

#### 4.5. Parametri slika pre i posle terapije

Rezultati poređenja vrednosti veličine tumora na MR snimcima pre i posle terapije u grupi svih pacijenata prikazani su u tabeli 15. Nije uočena statistički značajna razlika u ovim vrednostima pre i posle terapije. Nasuprot tome, za vrednosti parametara slika GW,  $\Delta f(\alpha)$  i  $\alpha_{\min}$ , uočeno je statistički značajno povećanje prosečnih vrednosti, dok je za parametre Q koje odgovara  $Dq_{\max}$ ,  $f(\alpha)_{\min}$ ,  $\alpha$  koje odgovara  $f(\alpha)_{\min}$  i  $\alpha_{\max}$  uočeno značajno smanjenje vrednosti nakon terapije (tabela 16).

**Tabela 15.** Veličina tumora pre i posle terapije

	Pre	Posle	P
KK, mm	97,13 ± 41,52	103,20 ± 41,02	0,368
LL, mm	51,57 ± 22,23	52,99 ± 22,39	0,906
AP, mm	45,94 ± 23,80	46,07 ± 24,82	0,381
Površina tumora	17367,26 ± 13740,80	18700,66 ± 13234,50	0,774
Volumen tumora	617973,0 (1370852)	668609,5 (1556585)	0,730

Vrednosti su srednja vrednost ± SD ili medijana (interkvartilni opseg).

**Tabela 16.** Parametri GW slika pre i posle terapije

	Pre	Posle	Smer razlike	P
Q <sub>max</sub>	1,8761 ± 0,0413	1,8785 ± 0,0447	↑	0,500
Q koje odgovara Dq <sub>max</sub>	0,0910 ± 0,2782	0,1431 ± 0,1559	↑	<b>0,047</b>
$f(\alpha)_{\max}$	1,9979 ± 0,0304	1,9924 ± 0,0265	↓	0,062
$f(\alpha)_{\min}$	0,7671 ± 0,1081	0,7040 ± 0,1374	↓	<b>&lt;0,001</b>
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)_{\max}$	1,3189 ± 0,2937	1,3510 ± 0,3181	↓	0,318
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)_{\min}$	1,0329 ± 0,0727	1,0035 ± 0,1329	↓	<b>0,034</b>
$\Delta f(\alpha)$	1,2308 ± 0,1150	1,2884 ± 0,1456	↑	<b>&lt;0,001</b>
Dq <sub>min</sub>	1,0598 ± 0,0715	1,0337 ± 0,1352	↓	0,065
Q koje odgovara Dq <sub>min</sub>	10,9000 ± /	10,7810 ± 0,8265	↓	0,181
$\alpha_{\max}$	2,0884 ± 0,0391	2,0762 ± 0,0395	↓	<b>0,001</b>
$\alpha_{\min}$	1,0205 ± 0,0741	0,9888 ± 0,1321	↑	<b>0,022</b>
$\Delta\alpha$	1,0679 ± 0,0728	1,0874 ± 0,1435	↑	0,160

Poredeći vrednosti parametara slika kvocijent 2GW/1GBe pre i nakon sprovedene terapije, uočili smo statistički značajno smanjenje vrednosti parametara  $f(\alpha)_{\min}$  ( $1,4481 \pm 0,2285$  na  $1,3186 \pm 0,2967$ ,  $p < 0,001$ ) i  $\alpha_{\max}$  ( $1,0086 \pm 0,0119$  na  $1,0037 \pm 0,0118$ ,  $p = 0,002$ ), dok je za parametar  $\Delta f(\alpha)$  uočeno značajno povećanje vrednosti sa  $0,8347 \pm 0,0723$  na  $0,8849 \pm 0,0887$  ( $p < 0,001$ ).

Tabela 17. Parametri kvocijent 2GW/1GBe slika pre i posle terapije

	Pre	Posle	Smer razlike	P
Qmax	$0,9963 \pm 0,0083$	$0,9954 \pm 0,0088$	↓	0,418
Q koje odgovara Dqmax	$0,8949 \pm 0,8763$	$0,9109 \pm 0,2675$	↑	0,873
$f(\alpha)_{\max}$	$0,9921 \pm 0,0104$	$0,9942 \pm 0,0093$	↑	0,150
$f(\alpha)_{\min}$	$1,4481 \pm 0,2285$	$1,3186 \pm 0,2967$	↓	<b>&lt; 0,001</b>
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)_{\max}$	$1,0123 \pm 0,0811$	$1,0060 \pm 0,0834$	↓	0,566
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)_{\min}$	$1,0158 \pm 0,0283$	$1,0106 \pm 0,0409$	↓	0,282
$\Delta f(\alpha)$	$0,8347 \pm 0,0723$	$0,8849 \pm 0,0887$	↑	<b>&lt; 0,001</b>
Dqmin	$0,9988 \pm 0,0266$	$1,000 \pm 0,0443$	↑	0,771
Q koje odgovara Dqmin	1,000 (1,7712)	1,000 (0,4697)	↔	0,542
$\alpha_{\max}$	$1,0086 \pm 0,0119$	$1,0037 \pm 0,0118$	↓	<b>0,002</b>
$\alpha_{\min}$	$1,0280 \pm 0,0291$	$1,0198 \pm 0,0387$	↓	0,097
$\Delta \alpha$	$0,9926 \pm 0,0359$	$0,9923 \pm 0,0341$	↓	0,950

Vrednosti su srednja vrednost  $\pm$  SD ili medijana (interkvartilni opseg).

#### 4.5.1. Parametri slika pre i posle terapije u odnosu na odgovor na terapiju

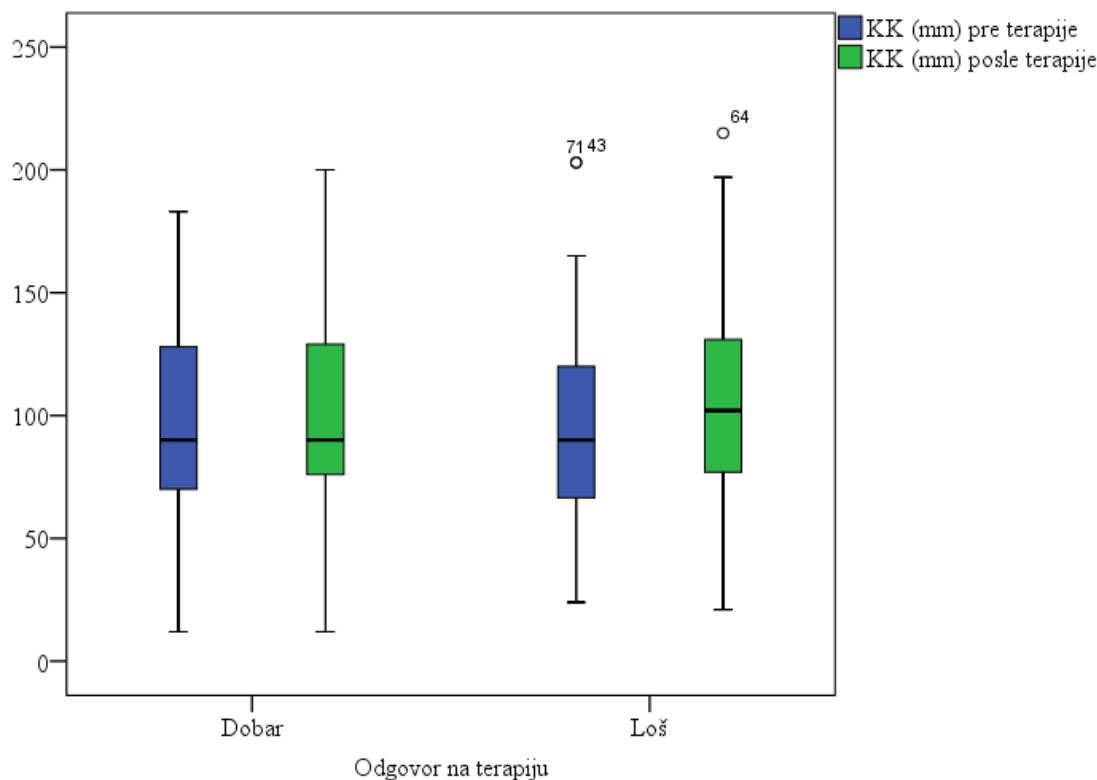
Parametri MR snimaka poređeni su pre i nakon terapije u grupama pacijenata sa dobrim i onim sa lošim odgovorom i rezultati su prikazani u tabeli 18. Dok kod pacijenata koji su dobro odgovorili na terapiju nije bilo statistički značajne promene parametara snimaka pre i nakon terapije, kod pacijenata koji su loše odgovorili na terapiju parametar KK je imao značajno veću vrednost nakon terapije ( $p = 0,039$ ). Ova razlika je prikazana grafički



na grafikonu 7. Kod obe grupe pacijenata nije uočena statistički značajna razlika u veličini i volumenu tumora pre i posle terapije.

**Tabela 18.** Veličina tumora pre i posle terapije u odnosu na odgovor na terapiju

	Dobar odgovor na terapiju n = 37	P	Loš odgovor na terapiju n = 51	P
<b>KK, mm</b>				
Pre	96,78 ± 42,84	0,401	97,37 ± 40,95	<b>0,039</b>
Posle	100,97 ± 42,47		104,82 ± 40,29	
<b>LL, mm</b>				
Pre	46,70 ± 25,30	0,964	55,10 ± 19,20	0,217
Posle	46,57 ± 23,48		57,65 ± 20,57	
<b>AP, mm</b>				
Pre	37,46 ± 22,40	0,960	52,10 ± 23,08	0,959
Posle	37,59 ± 22,77		52,22 ± 24,63	
<b>Površina tumora, mm<sup>2</sup></b>				
Pre	15748,70 ± 14613,73	0,807	18541,51 ± 13092,73	0,116
Posle	16111,19 ± 12997,41		20579,29 ± 132132,20	
<b>Volumen tumora, mm<sup>3</sup></b>				
Pre	1144042,57 ± 1821272,44	0,880	1546808,14 ± 1632965,76	0,248
Posle	1115291,57 ± 175897,74		1745876,41 ± 1764962,06	



Grafikon 7. KK (mm) pre i posle terapije u odnosu na odgovor na terapiju.

Rezultati poređenja parametara slika GW pre i nakon terapije u odnosu na odgovor na terapiju prikazani su u tabeli 19. U grupi pacijenata koji su dobro odgovorili na terapiju uočeno je statistički značajno smanjenje vrednosti parametara  $f(\alpha)_{min}$  ( $0,7598 \pm 0,1042$  na  $0,0683 \pm 0,1645$ ,  $p = 0,009$ ) i  $\alpha_{max}$  ( $2,0867 \pm 0,0385$  na  $2,0763 \pm 0,0375$ ,  $p = 0,047$ ), dok je za parametar  $\Delta f(\alpha)$  uočeno statistički značajno povećanje vrednosti sa  $1,2375 \pm 0,1811$  na  $1,3055 \pm 0,1746$  ( $p = 0,022$ ). U grupi pacijenata koji su loše odgovorili na terapiju uočeno je statistički značajno smanjenje parametara  $f(\alpha)_{min}$  ( $0,7724 \pm 0,1117$  na  $0,7193 \pm 0,1130$ ,  $p < 0,001$ ),  $\alpha$  koje odgovara  $f(\alpha)_{min}$  ( $1,0387 \pm 0,0699$  na  $1,0250 \pm 0,0719$ ,  $p = 0,044$ ) i  $\alpha_{min}$  ( $1,0267 \pm 0,0715$  na  $1,0107 \pm 0,0745$ ,  $p = 0,018$ ), dok je za parametre  $\Delta f(\alpha)$  ( $1,2260 \pm 0,1206$  na  $1,2760 \pm 0,1272$ ,  $p = 0,001$ ) i  $\alpha_{max}$  ( $1,0267 \pm 0,0715$  na  $2,0761 \pm 0,0413$ ,  $p = 0,006$ ) uočeno statistički značajno povećanje vrednosti nakon terapije.

**Tabela 19.** GW slika pre i posle terapije u odnosu na odgovor na terapiju

	Dobar odgovor na terapiju n = 37	P	Loš odgovor na terapiju n = 51	P
<b>Qmax</b>				
Pre	1,8777 ± 0,0414	0,507	1,8749 ± 0,0416	0,778
Posle	1,8818 ± 0,0437		1,8761 ± 0,0456	
<b>Q koje odgovara Dqmax</b>				
Pre	0,1292 ± 0,1369	0,021	0,0634 ± 0,3314	0,181
Posle	0,1728 ± 0,1373		0,1216 ± 0,1656	
<b>f(α)max</b>				
Pre	1,9973 ± 0,0319	0,140	1,9983 ± 0,0296	0,348
Posle	1,9885 ± 0,0251		1,9954 ± 0,0274	
<b>f(α)min</b>				
Pre	0,7598 ± 0,1042	<b>0,009</b>	0,7724 ± 0,1117	<b>&lt; 0,001</b>
Posle	0,0683 ± 0,1645		0,7193 ± 0,1130	
<b>α koje odgovara f(α)max</b>				
Pre	1,3268 ± 0,2857	0,635	1,3130 ± 0,3022	0,346
Posle	1,3538 ± 0,3385		1,3489 ± 0,3060	
<b>α koje odgovara f(α)min</b>				
Pre	1,0250 ± 0,0767	0,108	1,0387 ± 0,0699	<b>0,044</b>
Posle	0,9739 ± 0,1842		1,0250 ± 0,0719	
<b>Δf(α)</b>				
Pre	1,2375 ± 0,1811	<b>0,022</b>	1,2260 ± 0,1206	<b>0,001</b>
Posle	1,3055 ± 0,1746		1,2760 ± 0,1272	
<b>Dqmin</b>				
Pre	1,0518 ± 0,0757	0,136	1,0656 ± 0,0684	0,137
Posle	1,0031 ± 0,1888		1,0558 ± 0,0729	
<b>Q koje odgovara Dqmin</b>				
Pre	10,000 ± /	/	10,000 ± /	0,182
Posle	10,000 ± /		10,695 ± 1,0819	
<b>α max</b>				
Pre	2,0867 ± 0,0385	<b>0,047</b>	1,0267 ± 0,0715	<b>0,006</b>
Posle	2,0763 ± 0,0375		2,0761 ± 0,0413	
<b>α min</b>				
Pre	1,0119 ± 0,0777	0,092	1,0267 ± 0,0715	<b>0,018</b>
Posle	0,9584 ± 0,1811		1,0107 ± 0,0745	
<b>Δα</b>				
Pre	1,0748 ± 0,0788	0,182	1,0628 ± 0,0684	0,673
Posle	1,11178 ± 0,1992		1,0653 ± 0,0780	

Rezultati poređenja parametara slika kvocijent 2GW/1GBe pre i nakon terapije u odnosu na odgovor na terapiju prikazani su u tabeli 20. U grupi pacijenata koji su dobro odgovorili na terapiju uočeno je statistički značajno povećanje prosečnih vrednosti parametara  $\Delta f(\alpha)$  ( $0,0863 \pm 0,0655$  na  $0,8870 \pm 0,0953$ ,  $p = 0,007$ ) i  $\Delta\alpha$  ( $0,9845 \pm 0,0293$  na  $0,9981 \pm 0,0353$ ,  $p = 0,047$ ). U grupi pacijenata koji su loše odgovorili na terapiju uočeno je statistički značajno smanjenje vrednosti parametara  $f(\alpha)$  min ( $1,4442 \pm 0,2433$  na  $1,3013 \pm 0,2414$ ,  $p < 0,001$ ),  $\alpha_{\max}$  ( $1,0108 \pm 0,0116$  na  $1,0031 \pm 0,0116$ ,  $p < 0,001$ ) i  $\Delta\alpha$  ( $0,9984 \pm 0,0393$  na  $0,9881 \pm 0,0330$ ,  $p = 0,032$ ), dok je za parametar  $\Delta f(\alpha)$  detektovano značajno povećanje prosečne vrednosti sa  $0,8336 \pm 0,0775$  na  $0,8835 \pm 0,0845$  nakon terapije ( $p < 0,001$ ).

**Tabela 20.** Kvocijent 2GW/1GBe slika pre i posle u odnosu na odgovor na terapiju

	Dobar odgovor na terapiju n = 37	P	Loš odgovor na terapiju n = 51	P
<b>Qmax</b>				
Pre	0,9943 ± 0,0093	0,685	0,9978 ± 0,0073	0,461
Posle	0,9934 ± 0,0097		0,9967 ± 0,0076	
<b>Q koje odgovara Dqmax</b>				
Pre	0,7958 ± 0,6604	0,375	0,9667 ± 1,0048	0,728
Posle	0,8928 ± 0,1515		0,9239 ± 0,3280	
<b>f(α)max</b>				
Pre	0,9917 ± 0,0097	0,348	0,9924 ± 0,0109	0,273
Posle	0,9942 ± 0,0111		0,9942 ± 0,0078	
<b>f(α)min</b>				
Pre	1,4536 ± 0,2095	0,053	1,4442 ± 0,2433	<b>&lt; 0,001</b>
Posle	1,3424 ± 0,3556		1,3013 ± 0,2414	
<b>α koje odgovara f(α)max</b>				
Pre	0,9873 ± 0,0096	0,681	1,0304 ± 0,0592	0,670
Posle	0,9779 ± 0,0993		1,0264 ± 0,6334	
<b>α koje odgovara f(α)min</b>				
Pre	1,1063 ± 0,0242	0,300	1,0154 ± 0,0312	0,721
Posle	1,0063 ± 0,0548		1,0138 ± 0,0268	
<b>Δf(α)</b>				
Pre	0,0863 ± 0,0655	<b>0,007</b>	0,8336 ± 0,0775	<b>&lt; 0,001</b>
Posle	0,8870 ± 0,0953		0,8835 ± 0,0845	
<b>Dqmin</b>				
Pre	0,9997 ± 0,0223	0,812	0,9982 ± 0,0295	0,258
Posle	0,9970 ± 0,0633		1,0027 ± 0,0026	
<b>Q koje odgovara Dqmin*</b>				
Pre	1,000 (1,7712)	0,259	1,000 (1,7712)	0,181
Posle	1,000 (1,7711)		1,0000 (0,4697)	
<b>α max</b>				
Pre	1,0056 ± 0,0120	0,696	1,0108 ± 0,0116	<b>&lt; 0,001</b>
Posle	1,0046 ± 0,0121		1,0031 ± 0,0116	
<b>α min</b>				
Pre	1,0304 ± 0,0253	0,229	1,0261 ± 0,0316	0,228
Posle	1,0181 ± 0,0525		1,0210 ± 0,0249	
<b>Δα</b>				
Pre	0,9845 ± 0,0293	<b>0,047</b>	0,9984 ± 0,0393	<b>0,032</b>
Posle	0,9981 ± 0,0353		0,9881 ± 0,0330	

#### 4.5.2. Parametri slika pre i posle terapije u odnosu na sektor skeleta

Rezultati poređenja parametara slika GW pre i nakon terapije u odnosu odgovor na terapiju i na sektor skeleta prikazani su u tabeli 21. U grupi pacijenata koji su dobro odgovorili na terapiju nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima parametara GW slike pre i posle terapije kod pacijenata sa različitim lokalizacijama sarkoma. U grupi pacijenata koji su loše odgovorili na terapiju, razlike u vrednostima parametara Q koje odgovara  $Dq_{max}$  ( $p = 0,005$ ),  $f(\alpha)_{min}$  ( $p = 0,039$ ) i  $\Delta f(\alpha)$  ( $p = 0,030$ ) su se statistički značajno razlikovale između pacijenata sa različitom lokalizacijom sarkoma. *Post-hoc* analiza razlika u odnosu na sektor skeleta pokazala je da kod pacijenata kod kojih je sarkom bio lokalizovan u proksimalnoj dijafizi parametar Q koje odgovara  $Dq_{max}$  se značajno više povećao nakon terapije u odnosu na pacijente kod kojih je sarkom bio lokalizovan u proksimalnoj metafizi (medijana (IQR) = -0.1333 (1,57) vs. -0.0167 (0,10);  $p = 0,027$ ) i proksimalnoj epifizi (medijana (IQR) = -0.1333 (1,57) vs. 0.0000 (0,10);  $p = 0,027$ ). Parametar  $f(\alpha)_{min}$  se značajno povećao kod pacijenata kod kojih se sarkom nalazio na proksimalnoj epifizi dok se kod pacijenata sa sarkomom na distalnoj metafizi ovaj parametar smanjio i ta razlika je bila statistički značajna u *post-hoc* analizi (medijana (IQR) = -0.0127 (0,06) vs. 0.0356 (0,09);  $p = 0,031$ ). Dok se parametar  $\Delta f(\alpha)$  značajno razlikovao kod pacijenata sa različitom lokalizacijom sarkoma u odnosu na sektor skeleta u primarnoj analizi ( $p = 0,030$ ), razlike ovog parametra u *post-hoc* analizi nisu dostigle statističku značajnost.

**Tabela 21.** Razlike parametara GW slika pre i posle terapije u odnosu na sektor skeleta i odgovor na terapiju

	PE	PM	PD	SD	DD	DM	P
<b><i>Dobar odgovor na terapiju</i></b>	n = 0	n = 21	n = 4	n = 4	n = 2	n = 6	
Qmax	/	-0,0078 (0,04)	-0,0071 (0,13)	-0,0065 (0,06)	-0,0062 (0,02)	-0,0007 (0,03)	0,564
Q koje odgovara Dqmax	/	-0,0500 (0,09)	-0,0333 (0,25)	-0,0250 (0,36)	-0,0667 (0,03)	-0,0083 (0,05)	0,274
$f(\alpha)$ max	/	0,0078 (0,07)	0,0027 (0,05)	0,0111 (0,04)	-0,0112 (0,01)	0,0137 (0,03)	0,871
$f(\alpha)$ min	/	0,0264 (0,10)	0,0305 (0,22)	0,0883 (0,12)	0,0589 (0,13)	0,0586 (0,34)	0,524
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ max	/	0,0151 (0,36)	-0,0884 (1,11)	0,0101 (0,61)	0,0289 (0,58)	0,0233 (0,57)	0,766
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ min	/	0,0335 (0,08)	0,0031 (0,14)	0,0291 (0,08)	0,0169 (0,03)	0,0464 (0,34)	0,287
$\Delta f(\alpha)$	/	-0,0043 (0,11)	-0,0400 (0,25)	-0,1007 (0,13)	-0,0701 (0,15)	-0,0493 (0,31)	0,556
Dqmin	/	0,0302 (0,07)	0,0004 (0,13)	0,0231 (0,08)	0,0127 (0,02)	0,0434 (0,36)	0,279
Q koje odgovara Dqmin	/	0,0000 (0,00)	0,0000 (0,00)	0,0000 (0,00)	0,0000 (0,00)	0,0000 (0,00)	/
$\alpha$ max	/	0,0172 (0,05)	0,0072 (0,05)	0,0221 (0,07)	0,0018 (0,02)	-0,0079 (0,03)	0,851
$\alpha$ min	/	0,0290 (0,08)	0,0037 (0,14)	0,0283 (0,10)	0,0265 (0,04)	0,0447 (0,33)	0,273
$\Delta\alpha$	/	-0,0109 (0,09)	-0,0092 (0,18)	-0,0282 (0,08)	-0,0247 (0,02)	-0,0213 (0,33)	0,249
<b><i>Loš odgovor na terapiju</i></b>	n = 5	n = 11	n = 4	n = 3	n = 2	n = 23	
Qmax	-0,0020 (0,04)	-0,0095 (0,04)	0,0311 (0,09)	-0,0046 (0,08)	0,0463 (0,03)	-0,0114 (0,03)	0,114
Q koje odgovara Dqmax	0,0000 (0,10)	-0,0167 (0,10)	-0,1333 (1,57)	-0,1167 (0,03)	0,0417 (0,05)	-0,0083 (0,09)	<b>0,005*</b>
$f(\alpha)$ max	0,0059 (0,02)	-0,0010 (0,01)	0,0014 (0,05)	-0,0125 (0,03)	0,0253 (0,0)	-0,0016 (0,03)	0,406
$f(\alpha)$ min	-0,0127 (0,06)	0,0427 (0,16)	0,1617 (0,30)	0,1938 (0,06)	0,0427 (0,09)	0,0356 (0,09)	<b>0,039**</b>
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ max	-0,0219 (0,33)	-0,0036 (0,25)	0,2634 (0,86)	0,0835 (0,59)	0,2460 (0,37)	-0,0725 (0,32)	0,225
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ min	-0,0185 (0,06)	0,0083 (0,08)	0,0157 (0,07)	0,0530 (0,01)	0,0265 (0,07)	0,0122 (0,06)	0,319
$\Delta f(\alpha)$	0,0162 (0,07)	-0,0422 (0,17)	-0,1768 (0,33)	-0,2223 (0,08)	-0,0174 (0,09)	-0,0181 (0,10)	<b>0,030***</b>
Dqmin	-0,0221 (0,06)	0,0056 (0,06)	0,0120 (0,09)	0,0403 (0,02)	0,0248 (0,07)	0,0112 (0,06)	0,517
Q koje odgovara Dqmin	0,0000 (3,48)	0,0000 (0,00)	0,0000 (2,61)	0,0000 (0,00)	0,0000 (0,00)	0,0000 (0,00)	0,098
$\alpha$ max	-0,0057 (0,03)	0,0016 (0,02)	0,0730 (0,08)	0,0353 (0,06)	0,0374 (0,00)	0,0058 (0,04)	0,212
$\alpha$ min	-0,0125 (0,05)	0,0123 (0,06)	0,0339 (0,07)	0,0443 (0,01)	0,0292 (0,07)	0,0105 (0,07)	0,172
$\Delta\alpha$	0,0144 (0,07)	-0,0125 (0,05)	0,0227 (0,05)	-0,0090 (0,05)	0,0082 (0,07)	-0,0093 (0,07)	0,534

Rezultati poređenja parametara slika 2GW/1GBe pre i nakon terapije u odnosu odgovor na terapiju i na sektor skeleta prikazani su u tabeli 22. U grupi pacijenata koji su dobro odgovorili na terapiju nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima parametara 2GW/1GBe slika pre i posle terapije kod pacijenata sa različitim lokalizacijama sarkoma. U grupi pacijenata koji su loše odgovorili na terapiju, razlike u vrednostima parametara Q koje odgovara  $Dq_{max}$  ( $p < 0,001$ ) i  $f(\alpha)_{max}$  (0,039) su se značajno razlikovale kod pacijenata sa različitom lokalizacijom sarkoma. Naime, kod pacijenata kod kojih je sarkom bio lokalizovan u proksimalnoj dijafizi parametar Q koje odgovara  $Dq_{max}$  se značajno više smanjio nakon terapije u odnosu na pacijente kod kojih je sarkom bio lokalizovan u proksimalnoj metafizi (medijana (IQR) = 1,7083 (5,50) vs. 0,0000 (0,39);  $p = 0,007$ ) dok se kod pacijenta sa sarkomom u proksimalnoj metafizi ovaj parameter povećao (medijana (IQR) = 1,7083 (5,50) vs. -0.1125 (0,30);  $p = 0,004$ ). Parametar  $f(\alpha)_{max}$  se značajno smanjio kod pacijenata kod kojih se sarkom nalazio na proksimalnoj epifizi dok se kod pacijenata sa sarkomom na srednjoj dijafizi ovaj parametar povećao i ta razlika je bila statistički značajna u *post-hoc* analizi (medijana (IQR) = 0.0053 (0,01) vs. -0.0115 (0,00);  $p = 0,027$ ).



**Tabela 22.** Razlike parametara kvocijent 2GW/1GBe slika pre i posle terapije u odnosu na sektor skeleta i odgovor na terapiju

	PE	PM	PD	SD	DD	DM	P
<b><i>Dobar odgovor na terapiju</i></b>	n = 0	n = 21	n = 4	n = 4	n = 2	n = 6	
Qmax	/	0,0000 (0,02)	-0,0035 (0,02)	0,0046 (0,02)	0,0025 (0,01)	-0,0021 (0,02)	0,803
Q koje odgovara Dqmax	/	-0,0981 (0,35)	-0,0447 (0,25)	0,0964 (0,51)	-0,2058 (0,18)	-0,0417 (0,20)	0,868
$f(\alpha)$ max	/	-0,0004 (0,02)	0,0006 (0,00)	-0,0011 (0,04)	-0,0076 (0,01)	0,0013 (0,02)	0,966
$f(\alpha)$ min	/	0,0098 (0,63)	0,1927 (0,45)	0,2821 (0,34)	0,1509 (0,10)	0,3600 (0,63)	0,678
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ max	/	0,0034 (0,13)	-0,0710 (0,22)	0,0199 (0,05)	-0,1225 (0,21)	0,0242 (0,35)	0,147
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ min	/	0,0000 (0,04)	0,0227 (0,04)	0,0250 (0,04)	0,0247 (0,03)	0,0215 (0,17)	0,852
$\Delta f(\alpha)$	/	-0,0265 (0,11)	-0,0459 (0,13)	-0,0872 (0,16)	-0,0618 (0,02)	-0,0787 (0,15)	0,905
Dqmin	/	-0,0021 (0,04)	0,0151 (0,05)	0,0116 (0,03)	0,0038 (0,00)	0,0236 (1,77)	0,873
Q koje odgovara Dqmin	/	0,0000 (1,77)	0,8856 (4,24)	0,0000 (20,75)	-11,6111 (23,22)	-0,8856 (8,52)	0,121
$\alpha$ max	/	0,0039 (0,02)	-0,0043 (0,02)	0,0155 (0,03)	-0,0004 (0,01)	-0,0130 (0,02)	0,343
$\alpha$ min	/	0,0034 (0,03)	0,0080 (0,05)	0,0279 (0,04)	0,0080 (0,02)	0,0371 (0,17)	0,931
$\Delta\alpha$	/	0,0023 (0,05)	-0,0230 (0,07)	0,0022 (0,08)	-0,0078 (0,00)	-0,0359 (0,07)	0,373
<b><i>Loš odogovor na terapiju</i></b>	n = 5	n = 11	n = 4	n = 3	n = 2	n = 23	
Qmax	0,0046 (0,02)	-0,0006 (0,03)	0,0063 (0,02)	0,0007 (0,02)	0,0085 (0,04)	-0,0012 (0,01)	0,712
Q koje odgovara Dqmax	0,0238 (0,15)	0,0000 (0,39)	1,7083 (5,50)	-0,2292 (0,94)	0,0706 (0,30)	-0,1125 (0,30)	< <b>0,001*</b>
$f(\alpha)$ max	0,0053 (0,01)	0,0002 (0,01)	-0,0142 (0,02)	-0,0115 (0,00)	0,0042 (0,03)	-0,0004 (0,01)	<b>0,039**</b>
$f(\alpha)$ min	-0,0210 (0,22)	0,0479 (0,81)	0,1933 (0,54)	0,2782 (0,03)	0,1520 (0,06)	0,1807 (0,19)	0,732
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ max	0,0097 (0,03)	0,0019 (0,06)	0,0262 (0,04)	0,0377 (0,02)	0,0402 (0,03)	0,0175 (0,05)	0,711
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ min	0,0020 (0,04)	-0,0020 (0,05)	-0,0069 (0,04)	-0,0155 (0,04)	0,0076 (0,09)	0,0061 (0,05)	0,705
$\Delta f(\alpha)$	0,0122 (0,07)	-0,0076 (0,24)	-0,1319 (0,22)	-0,1472 (0,04)	-0,0389 (0,01)	-0,0651 (0,07)	0,310
Dqmin	-0,0059 (0,04)	-0,0206 (0,04)	-0,0139 (0,04)	-0,0312 (0,02)	0,0016 (0,09)	0,0025 (0,05)	0,411
Q koje odgovara Dqmin	0,4697 (12,98)	0,0000 (2,24)	1,1204 (4,12)	0,0000 (23,22)	0,0000 (0,00)	0,0000 (0,23)	0,617
$\alpha$ max	0,0044 (0,02)	0,0093 (0,04)	0,0155 (0,02)	0,0145 (0,01)	0,0167 (0,03)	0,0053 (0,02)	0,646
$\alpha$ min	-0,0026 (0,03)	0,0034 (0,05)	0,0015 (0,04)	-0,0098 (0,02)	0,0138 (0,09)	0,0124 (0,04)	0,775
$\Delta\alpha$	0,0288 (0,04)	0,0026 (0,04)	0,0318 (0,05)	0,0517 (0,05)	0,0153 (0,01)	-0,0061 (0,04)	0,322

Post-hoc anaiza: \*PM i PD (p = 0,007) i PD i DM (p = 0,004). \*\*PE i SD (p = 0,027).

#### **4.5.3. Parametri slika pre i posle terapije u odnosu na tip sarkoma**

Rezultati poređenja parametara slika GW pre i nakon terapije u odnosu na tip sarkoma i odgovor na terapiju prikazani su na tabeli 23. Nije uočena statistički značajna razlika između vrednosti parametara pre i nakon terapije između OSA i ESA sarkoma ni u jednoj grupi pacijenata (ni u grupi dobrog odgovora na terapiju ni u grupi koja je loše odgovorila na terapiju).

**Tabela 23.** Razlike parametara GW slika pre i posle terapije u odnosu na tip sarkoma i odgovor na terapiju

	Dobar odgovor			Loš odgovor		
	Osteosarcoma	Ewing sarcoma	P	Osteosarcoma	Ewing sarcoma	P
Qmax	-0,0056 (0,05)	-0,0052 (0,04)	0,825	-0,0046 (0,04)	-0,0013 (0,06)	0,916
Q koje odgovara Dqmax	-0,0333 (0,08)	-0,0500 (0,08)	0,337	-0,0167 (0,08)	-0,0167 (0,10)	0,659
$f(\alpha)$ max	0,1035 (0,05)	0,0070 (0,04)	0,314	-0,0019 (0,03)	0,0052 (0,02)	0,327
$f(\alpha)$ min	0,0389 (0,11)	0,0281 (0,11)	0,345	0,0427 (0,10)	0,0558 (0,15)	0,655
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ max	0,0432 (0,40)	-0,0029 (0,47)	0,224	-0,0292 (0,27)	0,0075 (0,37)	0,595
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ min	0,0162 (0,06)	0,0337 (0,08)	0,264	0,0133 (0,06)	0,0091 (0,07)	0,878
$\Delta f(\alpha)$	-0,0548 (0,11)	-0,0253 (0,11)	0,462	-0,0233 (0,13)	-0,0497 (0,16)	0,840
Dqmin	0,0221 (0,07)	0,0290 (0,07)	0,264	0,0125 (0,05)	-0,0012 (0,07)	0,805
Q koje odgovara Dqmin	0,0000	0,0000	/	0,0000	0,0000	/
$\alpha$ max	-0,0059 (0,06)	0,0136 (0,04)	0,655	0,0081 (0,04)	0,0138 (0,05)	0,895
$\alpha$ min	0,0206 (0,06)	0,0299 (0,08)	0,275	0,0123 (0,06)	0,0159 (0,06)	0,834
$\Delta\alpha$	-0,0390 (0,04)	-0,0147 (0,07)	0,253	-0,0045 (0,05)	-0,0104 (0,06)	0,735

Rezultati poređenja parametara slika 2GW/1GBe pre i nakon terapije u odnosu na tip sarkoma i odgovor na terapiju prikazani su na tabeli 24. U grupi pacijenata koji su dobro odgovorili na terapiju dobijena je granična statistički značajna razlika vrednosti parametra  $f(\alpha)_{\max}$  pre i nakon terapije između pacijenata sa OSA i onih sa EOS ( $p = 0,049$ ). Naime, kod pacijenata sa EOS došlo je do povećanja vrednosti  $f(\alpha)_{\max}$  nakon terapije (medijana razlike =  $-0,0012$ , interkvartilni opseg =  $0,02$ ), dok je kod pacijenata sa osteosarkomom došlo do smanjenja vrednosti ovog parametra (medijana razlike =  $0,0009$ , interkvartilni opseg =  $0,02$ ).

U grupi pacijenata koji su loše odgovorili na terapiju, vrednost parametra  $Q$  koje odgovara  $D_{\min}$  se značajno više smanjila kod pacijenata koji su imali EOS u poređenju sa pacijentima koji su imali OSA ( $p = 0,030$ ).

**Tabela 24.** Razlike parametara kvocijent 2GW/1GBe slika pre i posle terapije u odnosu na tip sarkoma i odgovor na terapiju

	Dobar odgovor			Loš odgovor		
	Osteosarcoma	Ewing sarcoma	P	Osteosarcoma	Ewing sarcoma	P
Qmax	-0,0006 (0,02)	-0,0002 (0,01)	0,245	0,0001 (0,01)	-0,0014 (0,02)	0,804
Q koje odgovara Dqmax	-0,1081 (0,34)	-0,0119 (0,24)	0,594	-0,0769 (0,36)	0,0000 (0,22)	0,545
$f(\alpha)$ max	0,0009 (0,02)	-0,0012 (0,02)	<b>0,049</b>	-0,0007 (0,01)	-0,0023 (0,02)	0,497
$f(\alpha)$ min	0,1823 (0,61)	0,0864 (0,48)	0,834	0,1791 (0,38)	0,1434 (0,23)	0,870
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ max	0,0065 (0,13)	0,0031 (0,11)	0,083	0,0203 (0,05)	0,0104 (0,03)	0,800
$\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)$ min	0,0257 (0,04)	0,0071 (0,05)	0,554	0,0008 (0,04)	-0,0000 (0,06)	0,440
$\Delta f(\alpha)$	-0,0486 (0,11)	-0,0348 (0,10)	0,919	-0,0657 (0,15)	-0,0389 (0,10)	0,976
Dqmin	0,0145 (0,04)	0,0037 (0,03)	0,407	-0,0033 (0,05)	-0,0128 (0,06)	0,351
Q koje odgovara Dqmin	0,0000 (3,07)	0,0000 (1,89)	0,444	0,0000 (0,47)	0,2348 (17,86)	<b>0,030</b>
$\alpha$ max	0,0113 (0,02)	-0,0013 (0,02)	0,146	0,0056 (0,02)	0,0074 (0,02)	0,722
$\alpha$ min	0,0216 (0,04)	0,0107 (0,04)	0,433	0,0001 (0,05)	0,0016 (0,04)	0,797
$\Delta\alpha$	0,0070 (0,06)	-0,0070 (0,06)	0,287	0,0024 (0,05)	0,0104 (0,03)	0,693

#### 4.5.4. Parametri snimaka pre i posle terapije kao prediktori lošeg terapijskog odgovora

Da bi se odredilo koji od razlika parametara slika pre i posle terapije predstavljaju nezavisne prediktore lošeg odgovora na terapiju prvo je urađeno više univarijantnih logističkih regresionih analiza i parametri čija je razlika ( $\Delta$ ) bila povezana sa lošim odgovorom na terapiju sa nivoom značajnosti  $p < 0,1$  unešeni su u multivarijantnu logističku regresiju. Rezultati univarijantne logističke regresije za parametre slika GW i kvocijent 2GW/1GBe prikazani su u tabelama 25 i 26 redom. U ovoj analizi razlike parametara Q koje odgovara  $D_{qmin}$  (OR = 1,10; 95%CI = 0,99 - 1,11;  $p = 0,097$ ),  $\alpha_{max}$  (OR = 34,34; 95%CI = 4,36 - 72,30;  $p = 0,029$ ) i  $\Delta\alpha$  (OR = 18,86; 95%CI = 8,41 - 31,53;  $p = 0,001$ ) kvocijent 2GW/1GBe slika pre i posle terapije bili su značajno povezani sa lošim odgovorom na terapiju (tabela 26).

**Tabela 25.** Univarijantna logistička regresija razlika vrednosti parametara slika GW pre i posle terapije u predikciji lošeg terapijskog odgovora

	OR	95%CI	P vrednost
$\Delta Q_{max}$	11,96	0,00 - 18,11	0,711
$\Delta Q$ koje odgovara $D_{qmax}$	0,77	0,12 - 7,81	0,744
$\Delta f(\alpha)_{max}$	0,31	0,00 - 9,38	0,371
$\Delta f(\alpha)_{min}$	0,25	0,01 - 3,51	0,373
$\Delta\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)_{max}$	0,90	0,22 - 3,74	0,892
$\Delta\alpha$ koje odgovara $f(\alpha)_{min}$	0,03	0,00 - 27,95	0,304
$\Delta(\Delta f(\alpha))$	2,63	0,11 - 60,01	0,546
$\Delta D_{qmin}$	0,02	0,00 - 34,66	0,306
$\Delta Q$ koje odgovara $D_{qmin}$	274,02	2,97 - 6,11	0,999
$\Delta\alpha_{max}$	18,91	0,00 - 17,94	0,677
$\Delta\alpha_{min}$	0,03	0,00 - 26,82	0,299
$\Delta(\Delta\alpha)$	108,62	0,03 - 18,27	0,271

$\Delta$  – razlika u vrednostima parametara snimaka pre i posle terapije.

**Tabela 26.** Univarijantna logistička regresija razlika vrednosti parametara slika kvocijent 2GW/1GBe pre i posle terapije u predikciji lošeg terapijskog odgovora

	OR	95%CI	P vrednost
$\Delta Q_{max}$	5,52	0,00 - 46,54	0,930
$\Delta Q$ koje odgovara $Dq_{max}$	1,19	0,72 - 1,99	0,497
$\Delta f(\alpha)_{max}$	34,80	0,00 - 43,00	0,822
$\Delta f(\alpha)_{min}$	1,43	0,34 - 5,97	0,622
$\Delta \alpha$ koje odgovara $f(\alpha)_{max}$	0,60	0,01 - 37,58	0,806
$\Delta \alpha$ koje odgovara $f(\alpha)_{min}$	0,01	0,00 - 3,98	0,391
$\Delta(\Delta f(\alpha))$	1,10	0,01 - 4,58	0,966
$\Delta Dq_{min}$	0,03	0,00 - 4,10	0,500
$\Delta Q$ koje odgovara $Dq_{min}$	1,10	0,99 - 1,11	<b>0,097</b>
$\Delta \alpha_{max}$	34,34	4,36 - 72,30	<b>0,029</b>
$\Delta \alpha_{min}$	0,03	0,00 - 5,20	0,629
$\Delta(\Delta \alpha)$	18,86	8,41 - 31,53	<b>0,001</b>

$\Delta$  – razlika u vrednostima parametara snimaka pre i posle terapije.

Parametri čija je razlika ( $\Delta$ ) u vrednostima pre i posle terapije bila značajno povezana sa lošim odgovorom na terapiju u univarijantnoj logističkoj regresiji ubačeni su u multivarijantnu logističku regresiju i rezultati ove analize prikazani su u tabeli 27. Jedini parameter koji se izdvojio kao značajan nezavisni prediktor lošeg terapijskog odgovora bio je  $\Delta \alpha$  (OR = 1,93; 95%CI = 3,67 – 35,44; p = 0,021). Svako povećanje razlike u vrednostima ovog paramtra pre i posle terapije povećava šansu za nastanak lošeg odgovora na terapiju 1,93 puta.

**Tabela 27.** Multivarijantna logistička regresija prediktora lošeg terapijskog odgovora

	OR	95%CI	P
$\Delta Q$ koje odgovara $D_{qmin}$	1,05	0,99 – 1,11	0,120
$\Delta\alpha_{max}$	7,54	0,00 - 55,87	0,726
$\Delta(\Delta\alpha)$	1,93	3,67 - 35,44	<b>0,021</b>



## **5. DISKUSIJA**

Rezistencija na hemioterapiju primarnih koštanih tumora predstavlja najveće ograničenje u terapiji istih, iz tog razloga predikcija hemioterapijskog odgovora kod primarnih koštanih tumora u trenutku postavljanja dijagnoze bila bi od neprocenjivog značaja u izboru terapijskog pristupa, pre svega tipa i ekstenzivnosti hirurške intervencije (225-228).

U petogodišnjem periodu od 2010-2014, na uzorku od 88 pacijenata koji su ispunili kriterijume za ulazak u našu studiju, potvrđenje su neke opšte činjenice vezane za tip, lokalizaciju, godine i pol. Većina pacijenata u ovoj studiji imala je osteosarkom (OSA) (61,5%) dok je Ewing sarcom (ESA) bio dijagnostikovao kod 38,5% pacijenata. Osteosarkom je najučestaliji primarni maligni koštani tumor, a Ewing sarkoma je drugi po učestalosti u populaciji mlađoj od dvadeset godina (9, 11, 229-231).

Najčešća lokalizacija sarkoma bio je femur (54,5 %), zatim tibija (20,5%) i fibula (11,4%) čineći skoro 70% svih tumorskih lokalizacija. Osteosarkomi su najučestaliji u dugim kostima donjih ekstremiteta (9,12, 15, 17, 19, 232), dok Ewing - ov sarkom može da zahvati bilo koju kost, ali pokazuje predilekciju javljanja na aksijalnom skeletu, dominantno u karličnim kostima (kod oko 25% pacijenata), a potom u skapuli, kičmenom stubu, rebrima i klavikuli, a kod oko 50% pacijenata lokalizovan je u ekstremitetima (10, 21). Od dugih kostiju, najčešće mesto javljanja je femur, a zatim humerus, tibija i kosti podlaktice.

U našoj studiji osteosarkom je najčešće bio lokalizovan u distalnoj metafizi 53,7% i proksimalnoj metafizi 31,5% svih OSA, što je u skladu sa tvrdnjama iz literature da se osteosarkom obično javlja u metafizama dugih kostiju, najčešće oko kolena (10), dok je Ewingov sarkom najčešće bio dijagnostikovao u proksimalnoj metafizi (44,1% svih ESA) (10, 20, 21). Uzimajući u obzir sektor cevastih kostiju, sarkomi su najčešće bili lokalizovani na proksimalnoj metafizi i distalnoj metafizi (36,4% oba) dok je distalna dijafiza bila najređe zahvaćena (4,5%) sa predilekcijom zahvatanja metafiza najbrže rastućih kostiju tokom ovog perioda: distalnog femura, proksimalne tibije i proksimalnog humerusa (20).

Većina pacijenata je bila muškog pola (67%), a odnos muškog i ženskog pola bio je 2:1, što je u skladu sa podacima iz literature, za OSA odnos muškog i ženskog pola je 1.5:1, a za ESA odnos muškog i ženskog pola je 1,3-1,5:1 (4,21,233). Prosečna starost studijske populacije bila je  $17,0 \pm 9,1$  godina i sa većim procentualnim učešćem osoba mlađih od 18 godina (67,0%). OSA se retko dijagnostikuje pre pete godine života, ali njegova incidenca raste sa godinama života, sve do oko perioda puberteta (12-17, 232, 233) i u toj populacionoj grupi čini više od 10% svih solidnih malignih tumora (11). S obzirom na pik incidence javljanja osteosarkoma u drugoj deceniji života, smatra se da postoji uzročna veza između brzog koštanog rasta tokom adolescencije i razvoja ovog maligniteta (20). ESA se može javiti u različitoj životnoj dobi, ali u 80% slučajeva, ovaj tumor se javlja kod pacijenata mlađih od 20. godine života. Maksimalna incidenca javljanja je tokom druge decenije života, mada se u prvoj deceniji života dijagnostikuje 20-30% slučajeva ESA (21).

Patološku frakturu imalo je 6 pacijenata (6,8%). Kod OSA patološke frakture nastaju relativno retko u 5-10% slučajeva, dok 16% pacijenata sa ESA trenutku postavljanja dijagnoze ima patološku frakturu (1, 4, 20, 27). Metastaze su otkrivene kod 28 (31,8%) pacijenata od kojih je 19 (21,6%) imalo metastaze inicijalno a 9 (10,2%) pacijenata je dobilo metastaze u toku lečenja. Najčešća lokalizacija metastaza bila su pluća (78,6%) dok je u kosti i mozak metastaziralo 17,8% i 3,6% sarkoma. Između 20 do 25% pacijenata sa ESA vreme postavljanja dijagnoze ima metastaze (10% u plućima, 10% kosti, koštana srž, 5% na drugim mestima) (234, 235).

Od 88 pacijenata kod kojih je dijagnostikovao sarkom, nakon terapije 37 (42,0%) njih je imalo stepen tumorske nekroze veći od 90%, odnosno dobro je odgovorilo na terapiju, dok je njih 51 (58%) loše reagovalo na terapiju, sa stepenom tumorske nekroze manjim od 90%. Nije uočena statistički značajna razlika u godinama i polu između ove dve grupe pacijenata. Prema podacima iz literature kod pacijenata starijih od 10 godina, muškog pola prognoza je lošija (72,236, 237).

Karakteristike vezane za tip, lokalizaciju i metastaze sarkoma poređene su kod pacijenata sa dobrim odgovorom na terapiju i onih sa lošim odgovorom. Pacijenti koji su loše

odreagovali na terapiju su u značajno većem procentu imali OSA (76,5%), dok je u grupi koja je dobro odgovorili na terapiju bilo više onih sa ESA (59,5%). U odnosu na sektor skeleta prisustvo sarkoma u proksimalnoj metafizi je značajno češće rezultiralo dobrim odgovorom na terapiju (56,8%) dok je sarkom u distalnoj metafizi u većem procentu loše odgovarao na terapiju (51,0%). Nije bilo statistički značajne razlike u odnosu na zahvaćenu kost, postojanje patološke frakture, prisustvo i lokalizaciju metastaza, kao ni dužinu prisustva bola kod ove dve grupe pacijenata.

Kombinovanom terapijom kod OSA sa lokalizovanom bolešću postiže se preživljavanje 70-80%, dok kod ESA petogodišnje preživljavanje je 60-70%, a u slučaju diseminovane bolesti manje od 20% (231,238 239,240,241). Prema podacima iz literature kao prediktori loše prognoze navode se lokalizacija tumora u aksijalnom skeletu, ramenom pojasu i proksimalnim delovima kostiju ekstremitetima, prisustvo metastaza i tumorska nekroza < 90% nakon neoadjuvantne terapije (72,226,227,236-238)

Opšte je poznato da procena terapijskog odgovora predstavlja patohistološki *grading* sistem koji se definiše nakon radikalne hirurške intervencije, posle sprovedene indukciono hemioterapije. Savremeni onkološki stavovi impliciraju što raniju potvrdu uspešnosti primenjene hemioterapije, kako bi se fond terapijskog vremena sveo na minimum. Medjutim, predikciju terapijskog odgovora radiološkim vizuelizacionim tehnikama je, za sada, veoma teško približiti "zlatnom standardu" patohistološke analize. Jedan od potencijalnih alata koji bi se mogao koristiti za analizu radioloških slika je matematički model fraktalne analize.

Mnoga ranija istraživanja pokazala su korelaciju kako fraktalnih tako i multifraktalnih parametara i generalno bioloških sistema. U jednom od tih istraživanja zaključeno je da je fraktalna dimenzija deskriptor ranih patoloških promena na neuronima (102). Primenjena je u citološkim ispitivanjima različitih tipova glijalnih ćelija (176,177), kao i iregularnosti mikroglije (242).

Fraktalna geometrija se pokazala merodavnom da kvantifikuje morfološku iregularnost u građi tumora, uključujući i distribuciju pseudoglandularnih aranžmana kod

adenokarcinoma žučne kese, a fraktalna dimenzija je parametar koji može biti primenjen za gradiranje tumora (169).

Fraktalna analiza citoloških karakteristika karcinoma dojke pokazala je korisnost fraktalne dimenzije za kvantifikaciji hromatinskih osobina u analizi slike nakon aspiracione biopsije tumora dojke (141). Do sličnih zaključaka se došlo i fraktalnim analiziranjem iregularnosti atipičnih nukleusa kod karcinoma cerviksa uterusa (173), i hepatocelularnih karcinoma (174). Ovom metodologijom moguće je uporedili relevantne detalje na mikrofotografijama regiona od interesa (ROIs) kod cervikalne intraepitelne neoplazije (243). Određivanje fraktalne dimenzije i teksturalna analiza pokazale su se kao moćno pomoćno sredstvo u klasifikaciji histopatoloških slika karcinoma prostate (244,245).

Pokazana je povezanost multifraktalnih parametara histoloških slika tumora dojke i patološkog gradusa (246), kao i monofraktalne dimenzije karcinoma dojke i njegove prognoze (247). Multifraktalna analiza u predikciji hemioterapijskog odgovora sprovedena je na mikrofotografijama malignih tumora dojke i pokazana je pouzdanost od 82% (248).

Klasifikacijom mikroskopskih slika intraoselnih metastatskih karcinoma korišćenjem multifraktalne analize postignuta je pouzdanost 73% u diferencijaciji multifraktalnih parametara između tri grupe metastaza u koštanom tkivu (249).

Pored fraktalne analize mikrofotografija i upotrebe fraktala u opisivanju nano i mikrostruktura, pre svega neoplazija i preneoplastičnih lezija poznato je korišćenje fraktala i za određivanje strukture kostiju na Rtg snimcima u slučajevima osteoporoze (189,250) i spontanih preloma kičmenog stuba (188), kao i za klasifikaciju ultrazvučnih slika dojki (251).

Fraktalna geometrija primenjivana je na mamografijama, u cilju što efikasnije dijagnoze karcinoma dojke (252-254). Fraktalna dimenzija je određivana u studijama koje su se bavile klasifikacijom mamografskih slika (187, 206, 208, 255, 256) i detekcijom mikrokalifikacija (257,258). Pokazano je da se fraktalnom analizom mogu izolovati mikrokalifikacije, ali je za njihovo precizno definisanje ipak efikasnija multifraktalna analiza (256,259)

Razmatrana je i mogućnost primene multifraktane analize u cilju segmentacije regiona jetre na CT slikama (260). Fraktalna dimenzija i Hurst eksponent računati su prilikom analiziranja MR slika zdrave jetre i jetre sa metastazama kolorektalnog carcinoma. Studija je ukazala na značaj Hurst indeksa u detekciji fokalnih lezija jetre (216).

Fraktalna analiza MR slika mozga i merenje fraktalne dimenzije u proceni odnosa sive i bele mase ukazalo je na postojanje razlike među pacijentima obolelim od šizofrenije, bipolarnog poremećaja i zdrave populacije (138). Ova metoda korišćena je za diferenciranje MR slika zdravog mozga od onih sa Alchajmerovom bolešću (215), kao i za detekciju tumora na MR slikama mozga. Uočeno je da je fraktalna dimenzija tumorskog regiona niža od netumorskog (261).

Prediktivna studija, u kojoj je korišćena fraktalna analiza parametara MR slika i odgovora na neoadjuvantnu terapiju, sprovedena je na tumorima dojke (262). Utvrđena je prognostička značajnost ali nisu računati pouzdanost i AUC. Međutim, multifraktalna analiza se pokazala kao sofisticiraniji metod sa pouzdanijim rezultatima u odnosu na fraktalnu analizu (103, 116,170,263,264)

Ne postoje komparabilne prethodne studije sa multifraktalnom analizom MR snimaka, specifično implementirane za postizanje predikcije i procene hemioterapijskog odgovora kod koštanih neoplazmi. Ispitivana je ranija evaluacija hemioterapijskog odgovora osteosarkoma, nakon jednog ciklusa korišćenjem 18 F-FDG PET i MRI (265). Kao prediktori hemioterapijskog odgovora razmatrani su peroxiredoxin 2 (266), kao i mRNA molekuli uključujući RUNX2, CDC5L, MDM2, RECQL4, CDK4 (267), ali kvantitavna merenja nisu rađena.

U studiji u kojoj smo procenjivali predikciju hemioterapijskog odgovora osteosarkoma dugih cevastih kostiju korišćenjem multifraktalne analize MR snimaka osteosarkoma pre hemioterapije, analizom 900 pojedinačnih snimaka uočena je pouzdanost hemioterapijskog odgovora od 74%, sa senzitivnošću od 72% i specifičnošću 76% za D(Q)max parametar. Analizom svih snimaka koji pripadaju istom tumoru, odnosno jednom pacijentu senzitivnost je iznosila 70 %, a specifičnost 86%. ROC analizom parametara svih

pojedinačnih snimaka dobili smo AUC za  $D(Q)_{max}$  parametar -0,65; CI 95% 0,62-0,68; dok je analizom snimaka svakog od 67 pacijenata AUC je iznosio -0,82; CI 95% 0,7-0,9. Negativan predznak odnosi se na inverznu povezanost  $D(Q)_{max}$  multifraktalnog parametra, koji je u ovoj studiji pokazao najveću prediktivnu vrednost u odgovoru na hemioterapiju. MR snimci osteosarkoma u ovoj studiji su pomoću ImageJ softvera prevedeni u digitalne slike rezolucije 1920 x 1080, koje su nakon toga transformisane u slike binarne forme. Na osnovu histopatološkog nalaza dobijenog nakon primenjene indukciono hemioterapije slike su klasifikovane u dve grupe na *good responders* i *poor responders*.

U aktuelnoj studiji procenjivani su parametri MFA MR snimaka osteosarkoma i Ewing sarkoma, pre i posle hemioterapije i njihova razlika. Dobijeni rezultati MFA nakon sprovedene hemioterapije poređeni su sa patohistološkom dijagnozom stepena tumorske nekroze klasifikovane po Huvos grading sistemu. U pripremi slika za MF analizu izvršena je transformacija digitalnih MR snimaka u programu Image J u digitalnu sliku rezolucije 1400 x 1054 piksela sive skale 1GBe slika. Kako programski *plug in* FracLac, koji je korišćen za izračunavanje parametara MFA, detektuje samo crne piksele na beloj pozadini ili obrnuto izvršeno je pretvaranje crnih (0) pozadinskih piksela u bele (255) i formiranje 2GW slike. Binarizacijom slika i *flood filling* tumora, odnosno popunjavanjem crnim pikselima dobijene su 3BWe slike, a inverzijom binarnih slika formirane su 4BBe slike. Tako je od početnih 1584 MR snimaka, po devet za svakog pacijenta pre i po devet posle, odnosno po tri iz svake ravni i eliminacije 528 koje svojim kvalitetom nisu zadovoljavale dalji postupak analize, oformljena baza od 4224 slike na kojima je računato dvanaest parametara MFA.

Analizom rezultata uočeno je da se binarizacijom slika, tj prebacivanjem 255 sivih nijansi u dve nijanse, tj crno i belo, gubi velika količina informacija (264). Takođe su dobijeni rezultati pokazali potrebu za uvođenjem korekcije za površinu tumora na slikama koje se analiziraju. Korekcija se radi tako da se svaki parametar za sliku deli sa sopstvenom vrednošću na aproksimativno invertovanom slikom. Zbog toga su u našoj studiji pored slika 2GW analizirane i slike dobijene nakon korekcije za površinu tumora na slikama koje se analiziraju formiranjem kvocijenta 2GW/1GBe, jer su fluktuacije površine tumora daleko veće od nekih malih strukturnih razlika koje primećuje multifraktalna analiza. Slično je

pokazano i u našoj studiji u kojoj je određivana fraktalna dimenzija i teksturalna analiza (GLCM) MR snimaka ostesarkoma femura kod 22 pacijenta formiranjem SFr parametra. *Space-filling* odnos (SFr) izračunat je kao odnos dve binarne dimenzije, prve koja je binarna slika cele tumorske zone ispunjene *foreground* pikselima i druge koja se dobija korišćenjem invertovanih slika u kojima je cela tumorska zona bila ispunjena *background* pikselima. Prosečan SFr između tri ravni dostigao je pouzdanost od 82% i AUC 0,80 što je superiorna prediktivnost u poređenju sa standardnim fraktalnim i GLCM karakteristikama.

Prediktivna vrednost multifraktalnih parametara tj. njihova sposobnost da pravilno diskriminišu dobar i loš odgovor na terapiju ispitivana je pomoću ROC krive i površina ispod krive (AUC) sa 95% intervalom poverenja. Nijedan parameter snimaka 2GW napravljenog pre terapije, nije pokazao statistički značajnu moć diskriminacije dobrog i lošeg odgovora na terapiju. Površina ispod ROC krive pokazuje statistički značajnu, ali slabu moć diskriminacije parametra  $\alpha$  koji odgovara  $f(\alpha)_{max}$ , za kvocijent 2GW/1GBe snimke pre terapije (AUC 0,66). Vrednost  $\alpha$  koja odgovara  $f(\alpha)_{max}$  i njegove prediktivne sposobnosti u prognozi odgovora na terapiju, računata pomoću *Youden* indeksa, veća od 1,0272 predstavlja optimalnu graničnu *cut off* vrednost u predikciji lošeg odgovora na terapiju.

U našoj studiji MFA MR snimaka osteosarcoma najveću predikcionu moć pokazao je  $D(Q)_{max}$ , a u studji u kojoj je rađena multifratalna analiza mikrofotografija karcinoma dojke kao najbolji predikcioni parametar definisan je  $f(\alpha)_{max}$  (248). Postojanje razlike u predikcionim parametrima se može objasniti time što su u pitanju različiti tipovi tumora, različiti tipovi slika koje se analiziraju, imajući u vidu da su za karcinom dojke analizirane mikro i nano vrednosti na mikrofografijama, a da su MR snimci, makrofotografije.

Za određivanje nezavisnih prediktora lošeg terapijskog odgovora među parametrima snimaka 2GW i kvocijent 2GW/1GBe, prvo je urađena univarijantna analiza. Kliničke karakteristike sarkoma i parametri snimaka koji su bili statistički značajno povezani sa ishodom lečenja u univarijantnoj logističkoj regresiji uneti su u multivarijantni logistički regresioni model u kome se  $\alpha$  koje odgovara  $f(\alpha)_{max}$  izdvojio kao jedini faktor nezavisno povezan sa lošim odgovorom na terapiju (OR=6,18;95% CI=1,89-15,59;p=0,035).



Određivano je i koja razlika parametara pre i posle terapije predstavlja nezavisne prediktore lošeg terapijskog odgovora među parametrima snimaka 2GW i kvocijent 2GW/1GBe. Dok nijedan parametar 2GW slike nije bio povezan sa lošim odgovorom na terapiju, rezultati univarijantne logističke regresije snimaka kvocijent 2GW/1GBe, pre i posle terapije za parametara Q koje odgovara  $D(Q)_{\min}$  (OR = 1,10; 95% CI = 0,99 - 1,11;  $p = 0,097$ ),  $\alpha_{\max}$  (OR = 34,34; 95% CI = 4,36 - 72,30;  $p = 0,029$ ) i  $\Delta\alpha$  (OR = 18,86; 95%CI = 8,41 - 31,53;  $p = 0,001$ ), bili su značajno povezani sa lošim odgovorom na terapiju. Parametri čija je razlika ( $\Delta$ ) u vrednostima pre i posle terapije bila značajno povezana sa lošim odgovorom na terapiju u univarijantnoj logističkoj regresiji analizirani su multivarijantnom logističkom regresijom. Jedini parametar koji se izdvojio kao značajan nezavisni prediktor lošeg terapijskog odgovora bio je  $\Delta\alpha$  (OR = 1,93; 95%CI = 3,67 – 35,44;  $p = 0,021$ ). Svako povećanje razlike u vrednostima ovog parametra pre i posle terapije povećava verovatnoću nastanka lošeg odgovora na terapiju 1,93 puta.

Veći volumen tumora je predstavljen kao prediktor lošeg ishoda bolesti kod primarnih koštanih sarkoma (236,237). U predikciji ishoda bolesti, volumen tumora, meren MR imidžingom, bio je udružen sa hemioterapijskim ishodom sa pouzdanošću od 78% (240).

Poređenjem vrednosti veličine tumora na MR snimcima pre i posle terapije svih pacijenata naše studije nije uočena statistički značajna razlika u ovim vrednostima. Nasuprot tome, za vrednosti parametara snimaka 2GW  $\Delta f(\alpha)$  i  $\alpha_{\min}$  uočeno je statistički značajno povećanje prosečnih vrednosti, dok je za parametre Q koje odgovara  $D(Q)_{\max}$ ,  $f(\alpha)_{\min}$ ,  $\alpha$  koje odgovara  $f(\alpha)_{\min}$  i  $\alpha_{\max}$  uočeno je značajno smanjenje vrednosti nakon terapije. Poredeći parametre snimaka kvocijent 2GW/1GBe pre i nakon terapije uočeno je statistički značajno smanjenje vrednosti parametara  $f(\alpha)_{\min}$ ,  $\alpha_{\max}$ , dok je za parameter  $\Delta f(\alpha)$  uočeno značajno povećanje vrednosti. Na osnovu dobijenih rezultat MFA u oba modela (2GW i kvocijent 2GW/1GBe slika) uočeno je da  $f(\alpha)_{\min}$  i  $\alpha_{\max}$  pokazuju smanjenje, te bi mogli biti fraktalne veličine, odnosno parametri koji treba procenjivati prilikom predikcije. Navedene varijable pokazuju korelaciju sa predikcijom na terapijski odgovor, mada njen smer nije definisan.

Radiološki parametri MR slika poređeni su pre i posle terapije u odnosu na odgovor na terapiju. Kod pacijenata koji su dobro odgovorili na terapiju nije bilo statistički značajne promene parametara snimaka pre i nakon terapije, dok je kod onih sa lošim odgovorom parametar  $KK$  imao značajno veću vrednost nakon terapije. Ovo se može dovesti u vezu sa time da se konzistencija tumora nakon sprovedene hemioterapije izmenila i da se njegov  $KK$  dijametar uvećao zbog promene oblika tumora. Rezultati poređenja parametara 2GW slike pre i nakon terapije u odnosu na odgovor na terapiju pokazali su značajno smanjenje parametara  $f(\alpha)_{min}$  i  $\alpha_{max}$ , dok je za parametar  $\Delta f(\alpha)$  uočeno statistički značajno povećanje vrednosti u grupi koja je dobro odgovorila na terapiju. U grupi pacijenata koji su loše odgovorili na terapiju uočeno je parametara visoko statistički značajno smanjenje  $f(\alpha)_{min}$ ,  $\alpha$  koje odgovara  $f(\alpha)_{min}$  i  $\alpha_{min}$ , dok je za parametre  $\Delta f(\alpha)$  i  $\alpha_{max}$  uočeno statistički značajno povećanje vrednosti nakon terapije. Poređenjem parametara slike kvocijent 2GW/1GBe u grupi koja je dobro odgovorila na terapiju statistički su značajno povećane prosečne vrednosti parametara,  $\Delta f(\alpha)$ ,  $\Delta\alpha$ . U grupi pacijenata koji su loše odgovorili na terapiju uočeno je statistički značajno smanjenje vrednosti parametara  $f(\alpha)_{min}$ ,  $\alpha_{max}$ ,  $\Delta\alpha$ , dok je za parameter  $\Delta f(\alpha)$  detektovano značajno povećanje prosečne vrednosti nakon terapije. Analizom predikcionog algoritma fraktalne vrednosti nije utvrđena značajnost za dobar terapijski odgovor. Međutim, pad vrednosti  $f(\alpha)_{min}$  je pokazan kao parametar predikcije lošeg odgovora u oba tipa analiza 2GW i kvocijent 2/1 slika. Za ovaj parametar pokazana je visoko statistički značajna direktna pozitivna korelacija sa lošim terapijskim odgovorom. Interesantno je da se u oba modela izdvojio i  $\alpha_{max}$ , ali sa različitim tipom korelacije. U 2GW snimcima povećanje  $\alpha_{max}$  upućuje na loš terapijski odgovor i čini negativnu korelaciju suprotno tome, kod analize kvocijent 2/1 slika uočena je direktna korelacija (pad  $\alpha_{max}$  korelira sa lošim terapijskim odgovorom). Ovakav sled rezultata postulira prediktivni algoritam koji bi podrazumevao inicijalno određivanje navedenih fraktalnih vrednosti. Ipak, treba naglasiti da je multivarijantna logistička regresija kao jedini prediktivni parametar multifraktalne analize izdvojila  $\alpha$  koje odgovara  $f(\alpha)_{max}$  sa pozitivnom prediktivnom vrednošću od 74%.

Poređenjem parametara 2GW slika pre i nakon terapije u odnosu na odgovor na terapiju i na regiju skeleta nije bilo statistički značajne razlike u grupi pacijenata koji su dobro odgovorili na terapiju kod pacijenata sa različitom lokalizacijom sarkoma. U grupi pacijenata koji su loše odgovorili na terapiju, razlike u vrednostima parametra Q koji odgovara  $D(Q)_{max}$ ,  $f(\alpha)_{min}$  i  $\Delta f(\alpha)$  su se statistički značajno razlikovale između pacijenata sa različitim lokalizacijama sarkoma. *Post-hoc* analiza razlika u odnosu na sektor skeleta pokazala je da kod pacijenta kod kojih je sarkom bio lokalizovan u proksimalnoj dijafizi, parameter Q koji odgovara  $D(Q)_{max}$  se značajno više povećavao u odnosu na pacijente kod kojih je sarkom bio lokalizovan u proksimalnoj metafizi i proksimalnoj epifizi. Parameter  $f(\alpha)_{min}$  se značajno povećavao kod pacijenata kod kojih se sarkom nalazio na proksimalnoj epifizi dok se kod pacijenata sa sarkomom na distalnoj metafizi statistički značajno smanjivao. Dok se parameter  $\Delta f(\alpha)$  u primarnoj analizi slike razlikovao kod pacijenata sa različitom lokalizacijom sarkoma, u *post hoc* analizi nije pokazana statistička značajnost.

Postojanje razlike analiziranih parametara i regije skeleta može se tumačiti različitim stepenom zrelosti koštanih struktura kao i individualno različitom vaskularizacijom tumorskih lezija, što je za posledicu moglo da ima različitu distribuciju primenjene hemioterapije na samo tumorsko tkivo. U narednim studijama bilo bi indikovano da se na većem uzorku istih regija skeleta zahvaćenih sarkomom, ciljano analiziraju parametri od značaja dobijeni u našoj studiji. Smatramo da u narednim istraživanjima postoji potreba da se tokom inicijalne radiološke dijagnostike precizno odredi anatomski arborizacija vaskularizacije kao i stepen vaskularizacije tumora različitih regija skeleta (268-270). Nakon toga bi trebalo učiniti korelaciju sa analizom postkontrastnog pojačanja intenziteta signala tumorskog tkiva na snimcima MR radi dobijanja uvida u dostupnost aplikacija hemioterapije, što bi uslovalo poređenje sa parametrima MFA od značaja potvrđenih u našoj studiji i utvrdilo eventualnu povezanost.

Kako našu grupu čine dva osnovna tipa primarnih malignih tumora kostiju koji pokazuju značajnu heterogenost u kliničkom, radiološkom i patohistološkom prikazu učinjena je i separativna analiza po histološkim tipovima. Kod snimaka kvocijent 2GW/1GBe pre i nakon terapije u odnosu na tip sarkoma u grupi pacijenata koji su loše

odgovorili na terapiju vrednost parametra  $Q$  koji odgovara  $D(Q)_{\min}$  se značajno više smanjila kod pacijenata koji su imali Ewingov sarkom u poređenju sa pacijentima koji su imali osteosarkom. U grupi pacijenata sa Ewingovim sarkomom koji su dobro odgovorili na terapiju došlo je do povećanja vrednosti  $f(\alpha)_{\max}$  nakon terapije, dok je kod pacijenata sa osteosarkomom došlo do smanjenja vrednosti ovog parametra. Naredna istraživanja bi trebalo usmeriti na poređenje parametara MFA snimaka kod različitih citogenetskih tipova tumora na većem uzorku. Homogenizacija istih citogenetskih tipova tumora sa identičnom regijom skeleta dovelo bi do jasnog definisanja karakterističnih parametara MFA u poceni odgovora na hemioterapiju.

U budućim studijama neophodno je precizno definisanje kriterijuma za predikciju i prognozu hemioterapijskog odgovora, a njihova eventualna potvrda bi mogla olakšati dileme u terapijskom pristupu primarnih koštanih tumora.

Osnovna ograničenja ove studije su ograničenost istraživanja na dugim cevastim kostima, nedostatak analize drugih sektora skeleta zahvaćenih sarkomom i upoređivanje rezultata sa postojećim koje smo dobili našim istraživanjem. Potreba za većim brojem snimaka koji bi bili analizirani zahtevala bi automatizaciju procesa isecanja i izdvajana prikaza tumorskog tkiva sa MR snimaka, kao i automatizacija njihove transformacije u preanalitičkoj fazi Frac Lac analize. Našim postupkom za izdvajanje devet reprezentativnih slika od svakog pacijenta u proseku je utrošeno po dvanaest minuta. Takođe automatizacija izdvajanja dobijenih numeričkih parametara MFA i njihova klasifikacija za dalju statističku obradu zahtevala je vremenski period u proseku od 34 minuta po pacijentu.

Mišljenja smo da uvođenje i primena metoda digitalne obrade slike u pre i postterapijskoj analizi snimaka primarnih koštanih tumora dugih cevastih kostiju, snimljenih magnetnom rezonancom, a koja se zasniva na matematičkim modelima ubrzava, objektivizuje i olakšava svakodnevni dijagnostički postupak poboljšavajući njegovu pouzdanost i preciznost. Upotrebom MFA medicinskih snimaka moguće je matematičkim alatima precizno, bez subjektivnosti, registrovati piksele sa istim eksponentom sivog i odrediti njihov broj i raspodelu na snimku. Na taj način se multidisciplinarno i objektivno omogućuje preciznija predikcija i prognoza hemioterapijskog odgovora u cilju povećanja uspeha u lečenju.

## **6. ZAKLJUČCI**

1. Binarizacijom MR slika gubi se velika količina informacija što implicira analizu „sive skale“ slika tumora.
2. Razlike u veličini tumora na MR slikama zahtevaju uvođenje individualnog korekcionog faktora za površinu, jer su fluktuacije površine tumora daleko veće od malih strukturnih razlika koje primećuje multifraktalna analiza.
3. Nijedan parameter inicijalnih slika 2GW nije pokazao statistički značajnu moć diskriminacije dobrog i lošeg odgovora na terapiju.
4. Parametar  $\alpha$  koji odgovara  $f(\alpha)_{\max}$ , za inicijalne slike kvocijent 2GW/1GBe pokazuje statistički značajnu, ali slabu moć diskriminacije dobrog i lošeg odgovora na terapiju.
5. Kod pacijenata koji su dobro odgovorili na terapiju nije bilo statistički značajne promene parametara MR snimaka pre i nakon terapije, dok je kod onih sa lošim odgovorom parametar KK imao značajno veću vrednost nakon terapije.
6. Jedini fraktalni parametar za slike kvocijent 2GW/1GBe koji se izdvojio kao značajan nezavisni prediktor lošeg terapijskog odgovora bio je  $\Delta\alpha$  (OR = 1,93; 95%CI = 3,67 – 35,44; p = 0,021). Svako povećanje razlike u vrednostima ovog parametra pre i posle terapije povećava verovatnoću nastanka lošeg odgovora na terapiju 1,93 puta.
7. Pad vrednosti  $f(\alpha)_{\min}$  je pokazan kao parametar predikcije lošeg odgovora u oba tipa analiza 2GW i kvocijent 2/1 slika. Za njega je utvrđena visoko statistički značajna direktna pozitivna korelacija sa lošim terapijskim odgovorom.
8. Fraktalne vrednosti koje treba obavezno uvrstiti u algoritam za predikciju terapijskog odgovora su  $f(\alpha)_{\max}$ ,  $\Delta\alpha$  i  $f(\alpha)_{\min}$  za slike kvocijent 2GW/1GBe i  $f(\alpha)_{\min}$  za slike 2GW. Ostale fraktalne veličine su opcioni deo algoritma.

## **7. LITERATURA**

1. WHO Classification of Tumours of soft Tissue and Bone.
2. Klein MJ, Siegal GP. Osteosarcoma: anatomic and histologic variants. *Am J Clin Pathol* 2006;125(4): 555–581.
3. Dorfman HD, Czerniak B. Bone tumors. Mosby, St Louis.1998
4. Piero Picci: Osteosarcoma (Osteogenic sarcoma). *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2007; 2:6.
5. Bernstein M, Kovar H, Paulussen M. et al. Ewing sarcoma family of tumors: Ewing sarcoma of bone and soft tissue and the peripheral primitive neuroectodermal tumors. In: Pizzo PA, Poplack DG, editors. Principles and practice of pediatric oncology. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins. 2006; p. 1002-32.
6. Heare T, Hensley MA, Dell'Orfano S. Bone tumors: osteosarcoma and Ewing's sarcoma. *Curr Opin Pediatr.* 2009; 21(3):365–372.
7. Leow PC, Tian Q, Ong ZY, Yang Z, Ee PL. Antitumor activity of natural compounds, curcumin and PKF118-310, as Wnt/beta-catenin antagonists against human osteosarcoma cells. *Invest New Drugs.* 2010;28(6):766–82
8. Caudill JS, Arndt CA. Diagnosis and management of bone malignancy in adolescence. *Adolesc Med State Art Rev.* 2007; 18(1):62–78, ix.
9. Williams, Wilkins. Musculoskeletal disorders Bone, Wolters, Professional Guide to Diseases, 9th ed, Philadelphia: Springhouse, Kluwer Health/Lippincott; 2009:864-8.
10. Casali, PG., Blay, J Y, Bertuzzi, A, Bielack, S, Bjerkehagen, B B, Sylvie. Bone sarcomas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology.* 2014 ;25 (Supplement 3): iii113–iii123.
11. Hansen MF, Seton M, Merchant A. Osteosarcoma in Paget's disease of bone. *J Bone Miner Res.* 2006; 21(Suppl 2): 58–63.



12. L. Mirabello, R. J. Troisi, and S. A. Savage, "Osteosarcoma incidence and survival rates from 1973 to 2004: data from the surveillance, epidemiology, and end results program," *Cancer*.2009; vol. 115, no. 7, pp. 1531–1543.
13. Dorfman HD and Czerniak, B. "Bone cancers," *Cancer*.1995; vol. 75, no. 1, pp. 203–210.
14. Unni KK. *Dahlin's Bone Tumors: General Aspects and Data on 11,087 Cases*, Lippincott-Raven, Philadelphia, Pa, USA. 1996.
15. Polednak AP. "Primary bone cancer incidence in black and white residents of New York State," *Cancer*.1985; vol. 55, no. 12, pp. 2883–2888.
16. Stiller CA, Bielack SS, Jundt, G and Steliarova-Foucher E. "Bone tumours in European children and adolescents, 1978–1997. Report from the Automated Childhood Cancer Information System project," *European Journal of Cancer*. 2006; vol. 42, no. 13, pp. 2124–2135.
17. Bielack BB, Kempf-Bielack B, Delling G et al., "Prognostic factors in high-grade osteosarcoma of the extremities or trunk: an analysis of 1,702 patients treated on neoadjuvant cooperative osteosarcoma study group protocols." *Journal of Clinical Oncology*.2002 vol. 20, no. 3, pp. 776–790.
18. Mirabello L, Troisi RJ, and Savage SA, "International osteosarcoma incidence patterns in children and adolescents, middle ages and elderly persons," *International Journal of Cancer*.2009; vol. 125, no. 1, pp. 229–234.
19. Damron TA, Ward WG, and Stewart A, "Osteosarcoma, chondrosarcoma, and Ewing's sarcoma: national cancer data base report," *Clinical Orthopaedics and Related Research*.2007; no. 459, pp. 40–47.
20. Link MP, Gebhardt MC, Meyers PA. Osteosarcoma. In: Pizzo PA, Poplack DG, editors. *Principles and practice of pediatric oncology*. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins. 2006; p. 1075-115.

21. Yukihide Iwamoto. Diagnosis and Treatment of Ewing's Sarcoma. *Jpn J Clin Oncol*. 2007;37(2)79–89.
22. Enneking WF. The issue of the biopsy. *J Bone Joint Surg Am*. 1982; 64: 1119–1120.
23. Andreou D, Bielack SS, Carrle D et al. The influence of tumor- and treatment related factors on the development of local recurrence in osteosarcoma after adequate surgery. An analysis of 1355 patients treated on neoadjuvant Cooperative Osteosarcoma Study Group protocols. *Ann Oncol* 2011; 22: 1228–1235.
24. Van den Berg H, Slaat A, Kroon HM et al. Results of diagnostic review in pediatric bone tumors and tumorlike lesions. *J Pediatr Orthop*. 2008; 28: 561–564.
25. Mankin HJ, Lange TA, Spanier SS. The hazards of biopsy in patients with malignant primary bone and soft-tissue tumors. *J Bone Joint Surg Am* 1982; 64: 1121–1127.
26. Meyer JS, Nadel HR, Marina N et al. Imaging guidelines for children with Ewing sarcoma and osteosarcoma: a report from the Children's Oncology Group Bone Tumor Committee. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 51: 163–170.
27. Rozeman LB, Cleton-Jansen AM, Hogendoorn PCW. Pathology of primary malignant bone and cartilage tumours. *International Orthopaedics (SICOT)* 2006; 30:437–444.
28. Van den Berg H, Kroon HM, Slaat A, Hogendoorn P. Incidence of biopsy-proven bone tumors in children: a report based on the Dutch pathology registration 'PALGA'. *J Pediatr Orthop* 2008; 28: 29–35.
29. Hauben EI, Hogendoorn PCW. Epidemiology of primary bone tumors and economical aspects of bone metastases. In Heymann D (ed), *Bone Cancer. Progression and Therapeutic Approaches*, 1st edition. London: Academic Press. 2009; 3–8.
30. Malhas AM, Grimer RJ, Abudu A et al. The final diagnosis in patients with a suspected primary malignancy of bone. *J Bone Joint Surg Br*. 2011; 93: 980–983.

31. De Alava E, Lozano MD, Patino A, Sierrasesumaga L, Pardo- Mindan FJ. Ewing family tumors: potential prognostic value of reverse-transcriptase polymerase chain reaction detection of minimal residual disease in peripheral blood samples. *Diagn Mol Pathol* 1998; 7:152–157.
32. Bramer JA, van Linge JH, Grimer RJ, Scholten RJ. Prognostic factors in localized extremityosteosarcoma: a systematic review. *Eur J Surg Oncol*. 2009; 35: 1030–1036.
33. Leavey PJ, Collier AB. Ewing sarcoma: prognostic criteria, outcomes and future treatment. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2008; 8: 617–624.
34. Saeed Solooki, Arash Khozaei, Seyedeh Azra Shamsdin\*, Mohammad Jafar Emami, Farnaz Khademolhosseini. CD30 and sCD40L Detection in Patients with Osteosarcoma, Chondrosarcoma and Ewing Sarcoma. *Iran J Immunol*. 2013; 10(4):229-237.
35. Sneppen O, Hansen LM. Presenting symptoms and treatment delay in osteosarcoma and Ewing's sarcoma. *ActaRadiol Oncol*.1984; 23:159-62
36. Sue C. Kaste. Imaging pediatric bone sarcomas. *Radiol Clin North Am*. 2011 July; 49(4): 749–vii.
37. Mar WA, Taljanovic MS, Bagatell R, et al. Update on imaging and treatment of Ewing sarcoma family tumors: what the radiologist needs to know. *J Comput Assist Tomogr* 2008; 32: 108-18.
38. Meyer JS, Dormans JP. Differential diagnosis of pediatric musculoskeletal masses. *Magn Reson Imaging Clin N Am*. 1998; 6: 561-77.
39. James SL, Panicek DM, Davies AM. Bone marrow oedema associated with benign and malignant bone tumours. *Eur J Radiol* .2008; 67: 11-21.
40. Wootton-Gorges SL. MR imaging of primary bone tumors and tumor-like conditions in children. *Magn Reson Imaging Clin N Am*. 2009; 17(3):469–87, vi.

41. Miller SL, Hoffer FA, Reddick WE, Wu S, Glass JO, Gronemeyer SA, et al. Tumor volume or dynamic contrast-enhanced MRI for prediction of clinical outcome of Ewing sarcoma family of tumors. *Pediatr Radiol*. 2001; 31(7):518–523.
42. Hoffer FA, Nikanorov AY, Reddick WE, Bodner SM, Xiong X, Jones-Wallace D, et al. Accuracy of MR imaging for detecting epiphyseal extension of osteosarcoma. *Pediatr Radiol*. 2000; 30(5): 289–298.
43. Onikul E, Fletcher BD, Parham DM, Chen G. Accuracy of MR imaging for estimating intraosseous extent of osteosarcoma. *AJR Am J Roentgenol*. 1996; 167(5):1211–1215.
44. Iwasawa T, Tanaka Y, Aida N, Okuzumi S, Nishihira H, Nishimura G. Microscopic intraosseous extension of osteosarcoma: assessment on dynamic contrast-enhanced MRI. *Skeletal Radiol*. 1997; 26(4):214–221.
45. Jiya TU, Wuisman PI. Long-term follow-up of 15 patients with non-metastatic Ewing's sarcoma and a skip lesion. *Acta Orthop*. 2005; 76(6):899–903.
46. Beth McCarville M. The child with bone pain: malignancies and mimickers. *Cancer Imaging* .2009; 9, S115-S121.
47. Federman N, Bernthal N, Eilber FC, Tap WD. The multidisciplinary management of osteosarcoma. *Curr Treat Options Oncol*. 2009; 10(1-2):82–93.
48. Kager L, Zoubek A, Kastner U, Kempf-Bielack B, Potratz J, Kotz R, et al. Skip metastases in osteosarcoma: experience of the Cooperative Osteosarcoma Study Group. *J Clin Oncol*. 2006;24(10):1535–1541.
49. Brennan, MF.; Singer, S.; Maki, RG.; O'Sullivan, B. Soft Tissue Sarcoma. In: DeVita, VT., Jr.; Lawrence, TS.; Rosenberg, SA., editors. *Devita, Hellman & Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology*. 8th edition. Lippincott Williams & Wilkins; Philadelphia, PA. 2010;12
50. Bhagia SM, Grimer RJ, Davies AM, Mangham DC. Scintigraphically negative skip metastasis in osteosarcoma. *Eur Radiol*. 1997; 7(9):1446–1448.

51. Leavey PJ, Day MD, Booth T, Maale G. Skip metastasis in osteosarcoma. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2003; 25(10):806–808.
52. Sajadi KR, Heck RK, Neel MD, Rao BN, Daw N, Rodriguez-Galindo C, et al. The incidence and prognosis of osteosarcoma skip metastases. *Clin Orthop Relat Res.* 2004; (426):92–96.
53. Mentzel HJ, Kentouche K, Sauner D, Fleischmann C, Vogt S, Gottschild D, et al. Comparison of whole-body STIR-MRI and <sup>99m</sup>Tc-methylene-diphosphonate scintigraphy in children with suspected multifocal bone lesions. *Eur Radiol.* 2004; 14(12):2297–2302.
54. Picci P, Sangiorgi L, Rougraff BT et al. Relationship of chemotherapy-induced necrosis and surgical margins to local recurrence in osteosarcoma. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2699–2705.
55. Grimer RJ, Bielack S, Flege S et al. Periosteal osteosarcoma—a European review of outcome. *Eur J Cancer* 2005; 41: 2806–2811.
56. Cesari M, Alberghini M, Vanel D et al. Periosteal osteosarcoma: a single institution experience. *Cancer.* 2011; 117: 1731–1735.
57. WHO Classification of Tumors. In Fletcher CDM, Bridge JA, Hogendoorn PCW, Mertens F (eds), *WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone.* Lyon: IARC. 2013.
58. Abdul-Karim FW, Bauer TW, Kilpatrick SE et al. Recommendations for the reporting of bone tumors. Association of Directors of Anatomic and Surgical Pathology. *Hum Pathol.* 2004; 35: 1173–1178.
59. Enneking WF, Spanier SS, Goodman MA. A system for the surgical staging of musculoskeletal sarcoma. *Clin Orthop Relat Res.* 1980; 153: 106–120.
60. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind CH (eds). *TNM Classification of Malignant Tumors*, 7th edition. Oxford: Wiley-Blackwell 2009.

61. Picci P, Vanel D, Briccoli A et al. Computed tomography of pulmonary metastases from osteosarcoma: the less poor technique. A study of 51 patients with histological correlation. *Ann Oncol.* 2001; 12: 1601–1604.
62. Benz MR, Tchekmedyian N, Eilber FC et al. Utilization of positron emission tomography in the management of patients with sarcoma. *Curr Opin Oncol.* 2009; 21: 345–351.
63. Franzius C, drup-Link HE, Sciuk J, Rummeny EJ, Bielack S, Jurgens H, et al. FDG-PET for detection of pulmonary metastases from malignant primary bone tumors: comparison with spiral CT. *Ann Oncol.* 2001; 12(4):479–486.
64. Kumar R, Chauhan A, Vellimana AK, Chawla M. Role of PET/PET-CT in the management of sarcomas. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2006; 6(8):1241–1250.
65. Gerth HU, Juergens KU, Dirksen U, Gerss J, Schober O, Franzius C. Significant benefit of multimodal imaging: PET/CT compared with PET alone in staging and follow-up of patients with Ewing tumors. *J Nucl Med.* 2007; 48(12):1932–1939.
66. Kleis M, drup-Link H, Matthay K, Goldsby R, Lu Y, Schuster T, et al. Diagnostic value of PET/CT for the staging and restaging of pediatric tumors. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2009; 36(1):23–36.
67. Volker T, Denecke T, Steffen I, Misch D, Schonberger S, Plotkin M, et al. Positron emission tomography for staging of pediatric sarcoma patients: results of a prospective multicenter trial. *J Clin Oncol.* 2007; 25(34):5435–5441.
68. Bestic JM, Peterson JJ, Bancroft LW. Pediatric FDG PET/CT: Physiologic uptake, normal variants, and benign conditions [corrected]. *Radiographics.* 2009; 29(5):1487–1500.
69. Franzius C, Juergens KU. PET/CT in paediatric oncology: indications and pitfalls. *Pediatr Radiol.* 2009; 39(Suppl 3):446–449.
70. Shammas A, Lim R, Charron M. Pediatric FDG PET/CT: physiologic uptake, normal variants, and benign conditions. *Radiographics.* 2009; 29(5):1467–1486.

71. Grimer RJ, Briggs TW. Earlier diagnosis of bone and soft-tissue tumors. *J Bone Joint Surg Br* 2010; 92: 1489–1492.
72. Ferrari S, Smeland S, Mercuri M et al. Neoadjuvant chemotherapy with high dose ifosfamide, high-dose methotrexate, cisplatin, and doxorubicin for patients with localized osteosarcoma of the extremity: a joint study by the Italian and Scandinavian Sarcoma Groups. *J Clin Oncol*. 2005; 23: 8845–8852.
73. Arndt CA, Crist WM. Common musculoskeletal tumors of childhood and adolescence. *N Engl J Med* .1999; 341: 342–352.
74. Lewis IJ, Nooij MA, Whelan J et al. Improvement in histologic response but not survival in osteosarcoma patients treated with intensified chemotherapy: a randomized phase III trial of the European Osteosarcoma Intergroup. *J Natl Cancer Inst*. 2007; 99: 112–128.
75. Carrle D, Bielack SS. Current strategies of chemotherapy in osteosarcoma. *Int Orthop*. 2006; 30: 445–451.
76. Bielack SS, Machatschek JN, Flege S, Jürgens H. Delaying surgery with chemotherapy for osteosarcoma of the extremities. *Expert Opin Pharmacother*. 2004; 5: 1243–1256.
77. Goorin AM, Schwartzentruber DJ, Devidas M et al. Presurgical chemotherapy compared with immediate surgery and adjuvant chemotherapy for non metastatic osteosarcoma: Pediatric Oncology Group Study POG-8651. *J Clin Oncol* 2003; 21: 1574–1580.
78. Whelan J, Patterson D, Perisoglou M et al. The role of interferons in the treatment of osteosarcoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2010; 54: 350–354.
79. Schuck A, Ahrens S, Paulussen M et al. Local therapy in localized Ewing tumors: results of 1058 patients treated in the CESS 81, CESS 86, and EICESS 92 trials. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2003; 55: 168–177.
80. Bernstein M, Kovar H, Paulussen M et al. Ewing's sarcoma family of tumors: current management. *Oncologist*. 2006; 11: 503–519.

81. Grier HE, Krailo MD, Tarbell NJ et al. Addition of ifosfamide and etoposide to standard chemotherapy for Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumor of bone. *N Engl J Med.* 2003; 348: 694–701.
82. Nesbit ME, Jr, Gehan EA, Burgert EO, Jr et al. Multimodal therapy for the management of primary, nonmetastatic Ewing's sarcoma of bone: a long term follow-up of the first intergroup study. *J Clin Oncol.* 1990; 8: 1664–1674.
83. Paulussen M, Craft AW, Lewis I et al. Results of the EICESS-92 study: two randomized trials of Ewing's sarcoma treatment—cyclophosphamide compared with ifosfamide in standard-risk patients and assessment of benefit of etoposide added to standard treatment in high-risk patients. *J Clin Oncol.* 2008; 26: 4385–4393.
84. Ferrari S, Sundby Hall K, Luksch R et al. Nonmetastatic Ewing family tumors: high-dose chemotherapy with stem cell rescue in poor responder patients. Results of the Italian Sarcoma Group/Scandinavian Sarcoma Group III protocol. *Ann Oncol.* 2011; 22: 1221–1227.
85. Fletcher BD. “Response of osteosarcoma and Ewing sarcoma to chemotherapy: imaging evaluation,” *American Journal of Roentgenology* 1991; vol. 157, no. 4, pp. 825–833.
86. Erlemann R, Sciuk J, Bosse A et al., “Response of osteosarcoma and Ewing sarcoma to preoperative chemotherapy: assessment with dynamic and static MR imaging and skeletal scintigraphy.” *Radiology.* 1990; vol. 175, no. 3, pp. 791–796.
87. Huvos AG. *Bone Tumors: Diagnosis, Treatment, and Prognosis*, W.B. Saunders, Philadelphia, PA, USA, 2nd edition, 1990.
88. Wunder JS, Paulian G, Huvos, Heller AG, Meyers PA, and Healey JH. “The histological response to chemotherapy as a predictor of the oncological outcome of operative treatment of Ewing Sarcoma,” *Journal of Bone and Joint Surgery.* 1998; vol. 80, no. 7, pp. 1020–1033.



89. Xu M, Xu SF and Yu XC . Clinical analysis of osteosarcoma patients treated with high-dose methotrexate-free neoadjuvant chemotherapy. *Curr Oncol*, Vol. 21, pp. e678-684.
90. Hendershot E, Pappo A, Malkin D, Sung L. Tumor necrosis in pediatric osteosarcoma: impact of modern therapies. *J Pediatr Oncol Nurs*. 2006; 23:176–81.
91. García-Castellano, José M. Atallah Yordi, Nagib Reyes, Carolina Healey, John H. Histopathologic and radiologic assessment of chemotherapeutic response in Ewing's sarcoma: A review. Hindawi Publishing Corporation *Sarcoma* Volume 2012, Article ID 357424.
92. Van der Woude HJ, Bloem JL, Verstraete KL, Taminiau AHM, Nooy MA, and Hogendoorn PCW, "Osteosarcoma and Ewing's sarcoma after neoadjuvant chemotherapy: value of dynamic MR imaging in detecting viable tumor before surgery." *American Journal of Roentgenology*. 1995; vol. 165, no. 3, pp. 593–598.
93. Van DerWoude HJ, Bloem JL, and Hogendoorn PCW, "Preoperative evaluation and monitoring chemotherapy in patients with high-grade osteogenic and Ewing's sarcoma: review of current imaging modalities," *Skeletal Radiology*. 1998; vol. 27, no. 2, pp. 57–71.
94. Dyke JP, Panicek DM, Healey JH et al., "Osteogenic and Ewing sarcomas: estimation of necrotic fraction during induction chemotherapy with dynamic contrast enhanced MR imaging," *Radiology*. 2003; vol. 228, no. 1, pp. 271–278.
95. Han G, Wang Y, Bi WZ, Wang DJ, Lu SB, Zhang L, Zhao B. Magnetic resonance imaging is appropriate for determining the osteotomy plane for appendicular osteosarcoma after neoadjuvant chemotherapy. *Med Oncol*. 2012; 29:1347–1353.
96. Reljin B, Reljin I, *Fraktalna i multifraktalna analiza signala*, Telfor 2001.
97. Reljin B, Reljin I, "Fraktalna geometrija i multifraktali u analizi i obradi digitalnih slika", *Zbornik konf. DOGS-02.2002 16-17 maj; Bečej*, pp.137-147.
98. Mandelbrot B, *Les objects fractals: forme, hasard et dimension*, 1975.

99. Matsuyama T, Matsushita M. Morphogenesis by bacterial cells. In: Iannaccone PM, Khokha M, editors. *Fractal geometry in biological systems, an analytical approach*. Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo: CRC Press. 1996; p. 127-71.
100. Turner M, Blackledge J, Andrews P: *Fractal Geometry in Digital Imaging*, Academic Press. 1998.
101. Peitgen H, Jurgens H, Andrews P *Chaos and Fractals*, Springer. 1992.
102. Budimlija ZM: “Fraktalna dimenzija neurona različitih regiona mozga u cerebralnoj hipoksiji”, doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Beograd 2001.
103. Landini G. Application of fractal geometry in pathology. In: Iannaccone PM, Khokha M, editors. *Fractal geometry in biological systems, an analytical approach*. Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo: CRC Press. 1996; p. 205-46.
104. Hausdorff F, “Dimension und äusseres Mass”, *Math. Ann.* 1919; Vol. 79, pp. 157-179.
105. Reljin B, Pavlović I, Reljin I, Rakočević I. “Multifraktalna analiza medicinskih slika”, *Zbornik VII konf. TELFOR-99*; 1999 Nov 23-25; Beograd .str. 469-472.
106. Goodchild M. “Fractals and the accuracy of geographical measure”, *Math. Geology*, 1980; Vol. 12, No. 2, pp. 85-98.
107. Grassberger P, Procaccia I: *Measuring the Strangeness of Strange Attractors*, Physica, 1983.
108. Hentschel HGE, Procaccia I: *The Infinite Number of Generalized Dimensions of Fractals and Strange Attractors*, Physica (Amsterdam) 8D, 435, 1983.
109. Balatoni J, Reyni A, Publ. Math. Inst. Hung. Acad. Sci 1, 9 (1959), English translation in: *The selected Papers of A. Reyni*, Vol. 1, S. 588, Akademia Budapest, Budapest, 1976.
110. Takayasu H: *Fractals in the physical sciences*, Manchester University Press, Manchester, New York, 1990.

111. Bunde A, Havlin S, Roman HE, *Multifractal features of random walks on random fractals*, Phys. Rev.1990; A 42, 6274.
112. Paladin G, Vulpiani A: *Anomalous Scaling Laws in Multifractal Objects*, Phys. Rep. 1987;4, 147.
113. Stanley HE, Meakin P: *Multifractal phenomena in physics and chemistry*, Nature. 1988;335, 405.
114. Mandelbrot BB: *J.Fluid Mech*1974;62,331.
115. Vehe J L “Introduction to the multifractal analysis of images”, <http://www-rocq.inria.fr/fractales>, 1996.
116. Uma K,Ramakrishnan KR, Ananthakrishna G, “Image analysis using multifractals”, in *Proc. IEEE Conf. ICASSP-96*.1996 May;Atlanta (USA): Vol. 4, pp. 2188-2190.
117. Willinger W,Taqqu M, Sherman R, Wilson D. “Selfsimilarity through high-variability: Statistical analysis of Ethernet LAN traffic at the source level”, in *Proc.ACM/Sigcomm '95*.
118. Taqqu M, Teverovsky V,Willinger W. “Estimators for long range dependence: An empirical study”,*Fractals*.1995; Vol. 3, No.4, pp. 785-788.
119. Crovella M, Taqqu M, Bestavros A. “Heavy-tailed probability distributions in the World Wide Web”, in *A Practical Guide to Heavy Tails: Statistical Techniques for Analyzing Heavy Tailed Distributions*, Adler R, Feldman R, Taqqu M (Eds.), Birkhauser, Boston (MA), 1996.
120. Mannersalo P, Norros I, “Multifractal analysis: A potential tool for teletraffic characterization?”, *COST257TD* .1997;(97)32, pp.1-17.
121. Mannersalo P, Norros I, “Multifractal analysis of real ATM traffic: A first book”, *COST257TD(97)*.1997;19, pp. 1-8.

122. Reljin I. "Pareto models for the neural network scheduled ATM streams", TELFOR 1998 Nov; Beograd.98, pp. 31-34.
123. Reljin I, Reljin B, Stanojević M, "Performances of the multiplexed Pareto streams", in *Proc. 4th Int. Conf. on Telecommunications in Modern Satellite, Cable and Broadcasting Services (TELSIKS'99)* IEEE.1999 Oct 13-15; Niš (Yugoslavia) .Vol.2, pp.528-531.
124. Reljin I, Reljin B, "Fraktalna analiza signala pri prenosu kroz ozračeno PCS vlakno", *44. konf. ETRAN*.2000 Jun 26-29; Soko Banja.
125. Reljin I, Stanojević M, Reljin B, "Fractal/multifractal nature of outgoing ATM multiplexer processes" (in Serbian), *Journal INFO Science*.2000 May ;Vol. 8, No. 2, pp. 10-16.
126. Reljin I, Reljin . "Neurocomputing in teletraffic:Multifractal spectrum approximation", (invited paper), in *Proc.5th Seminar NEUREL-2000*, IEEE.2000 Sept 25-27; Belgrade (YU) pp. 24-31.
127. Reljin B, Reljin I. "Multimedia: The impact on the teletraffic", in *Book 2*, N. Mastorakis (Ed.), World Scientific and Engineering Society Press, Clearance Center, Danvers, MA, 2000; pp. 366-373.
128. Stanojević M, Reljin I, Reljin B, "Fraktalne karakteristike drumskog saobraćaja", *44. konf. ETRAN*,.2000 Jun 26-29; Soko Banja.
129. Davis A, Marshak A, Wiscombe W. "Bi-multifractal analysis and multi-affine modeling of non-stationary geophysical processes, application to turbulence and clouds", *Fractals*.1993; Vol.1, No. 3, pp. 560-567.
130. Davis A, Marshak A, Wiscombe W, Calahan R. "Multifractal characterizations of nonstationarity and intermittency in geophysical fields: Observed, retrieved or simulated", *J. of Geophysical Research*, 1994; Vol. 99, No. D4, pp.8055-8072.
131. Reljin I, Jovanović G, Reljin B, "The climate signal analysis through linear and non-linear methods", *Proceedings of the XI ISTET'01*.2001 Aug; Linz.

132. Jovanović G, Reljin I, Reljin B. “Multifractal analysis of El Nino influence”, in *Proc. Conference on Non-linear Phenomena in Global Climate Dynamics*, The Abdus Salam International Center for Theoretical Physics. 2000 Sep 26-29; Trieste, Italy.
133. Reljin I, Reljin B, Jovanović G. “Multifractal analysis of El Nino climate influence”, *First Balkan Conference on Signal Processing, Communications, Circuits and Systems*, Balkan ‘2000, in Conference CD. 2000 Jun 2-3; Istanbul (Turkey).
134. Reljin I, Jovanović G, Reljin B, “Analiza polja temperatura i padavina u SR Jugoslaviji primenom empirijskih ortogonalnih funkcija”, *Zbornik 45. konf. ETRAN.2001Jun*; Arandelovac.
135. Jovanović G, Reljin I, Reljin B. “EOF analiza polja temperatura u SR Jugoslaviji”, *Zbornik Informacione Technologije, IT-2001*. 2001 mart; Žabljak, pp. 162-166.
136. Jovanović G, Reljin I, Reljin B. “Telekonekcija: El Ninjo - temperature u Srbiji”, *Zbornik Informacione Technologije, IT-2000 feb.28-mart 6*; Žabljak, pp. 45-49.
137. S Buldyrev S, Goldberger A, Havlin S, Peng C, Stanley H. “Fractals in biology and medicine: From DNA to heartbeat”, in A. Bunde, S. Havlin (Eds.), *Fractals in Science*. 1994; Berlin: Springer-Verlag; pp. 49-87.
138. Bulmore E, Brammer M, Harvey I, Persaud R, Muray R, Ron M. “Fractal analysis of the boundary between the white matter and cerebral cortex in magnetic resonance images: A controlled study of schizophrenic and manic.depressive patients”, *Psychological Medicine*. 1994; Vol. 24, pp. 771-781.
139. Cook M, Free S, Manfold M, Fish D, Shorvon S, J. Stevens. “Fractal description of cerebral cortical patterns in frontal lobe epilepsy”, *Eur. Neurology*. 1995; Vol. 35, pp. 327-335.
140. Cross S. “Fractals in pathology” (review article), *J. of Pathology*. 1997; Vol. 182, pp. 1-8.
141. Einstein A, Wu HS, Sanchez M, Gil J. “Fractal characterization of chromatin appearance for diagnostic in breast cytology”, *J. of Pathology*. 1998; Vol. 185, pp. 366-381.

142. Mannersalo P, Koski A, Norros I. "Telecommunication networks and multifractal analysis of human population distribution", COST257TD(98)2.1998; pp. 1-15.
143. Reljin I, Reljin B, Rakočević I, Mastorakis N. "Image content described by fractal parameters", in *Recent Advances in Signal Processing and Communications*, pp. 31-34, N. Mastorakis (Ed.), World Scientific Press, Danvers, MA, 1999.
144. Reljin B, Reljin I, Pavlović I, Rakočević I, "Fraktalna analiza medicinskih slika", *Zbornik Informatika u medicini i farmaciji*, IMF-99.1999Okt. 26-28; Arandelovac: pp. 49-53.
145. Reljin I, Reljin B, Rakočević I. "Analiza fraktalnih karakteristika slika", *Zbornik 43. Konf. ETRAN*.1999 sept 20-23; Zlatibor.
146. Reljin B, Pavlović I, Reljin I, Rakočević I, "Multifraktalna analiza medicinskih slika", *Zbornik VII konf. TELFOR-99*.1999 nov.23-25; Beograd: str.469-472.
147. Reljin I, Reljin B, Pavlović I, Rakočević I. "Multifractal analysis of gray-scale images", in *Proc. IEEE 10th Mediterranean Electrotechnical Conference, MELECON-2000*.2000 May 29-31; Lemesos, Cyprus: Vol. II, pp. 490-493.
148. Evertsz C, Mandelbrot B: "Multifractal Measures", Appendix B in H. Peitgen, H. Jurgens, P. Andrews *Chaos and Fractals*, Springer, 1992.
149. Halsey TC, Jensen MH, Kadanoff LP, Procaccia I, B. Shraiman BI: *Fractal measures and their singularities: The characterization of strange sets*, Phys. Rev. 1986; A 33, 1141.
150. Bunde A, Havlin S, Roman HE. *Fractals and Disordered Systems*.1991; Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: Springer..
151. Gammel B, Matpack Library Release 1.4.1999 Jan; <http://www.physic.tumuenchen.de:81/.../Falpha/>
152. Gammel B, *Multifractals*.1996; [http://www.physik.tumuenchen.de:81/lehrstuehle/T32/matpack/html/matpack\\_frame.html](http://www.physik.tumuenchen.de:81/lehrstuehle/T32/matpack/html/matpack_frame.html).

153. Chhabra A, Jensen RV: *Direct Determination of the  $f(\alpha)$  Singularity Spectrum*, Phys. Rev. Lett.1989; 62, 1327.
154. Herbert F. Jelinek, Eduardo Fernandez, Neurons and fractals: how reliable and useful are calculations of fractal dimensions?,Journal of Neuroscience Methods 1989;81,9 – 18
155. Losa G. A. Fractals in pathology: are they really useful?. Pathologica.1995; 87: 310-317. [Medline]
156. Coffey D. S. Self-organization, complexity and chaos: the new biology for medicine. Nat. Med .1998; 4: 882-885. [Medline]
157. Landini G. Pathology in geometry, and geometry in pathology Pickover C. A.
158. Family F., Masters B. R., Platt D. E. Fractal pattern formation in the human retinal vessels. Physica D1989; 38: 98-103.
159. Daxer A. Fractals and retinal vessels. Lancet.1992; 339: 618. [Medline]
160. Daxer A. Characterisation of the neovascularisation process in diabetic retinopathy by means of fractal geometry: diagnostic implications. Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.,1993; 231: 681-686.
161. Daxer A. The fractal geometry of proliferative diabetic retinopathy: implications for the diagnosis and the process of retinal vasculogenesis. Curr. Eye Res.1993; 12: 1103-1109. [Medline]
162. Daxer A., Ettl A. Corneal vascularisation and its relation to the physical properties of the tissue: a fractal analysis. Curr. Eye Res.1995; 14: 263-268. [Medline]
163. Landini G., Misson G. P., Murray P. I. Fractal analysis of the normal human retinal fluorescein angiogram. Curr. Eye Res.1993; 12: 23-27. [Medline]
164. Mainster M. A. The fractal properties of retinal vessels: embryological and clinical implications. Eye (Lond.).1990; 4: 235-241.

165. Gazit Y., Baish J. W., Safabakhsh N., Leunig M., Baxter L. T., Jain R. K. Fractal characteristics of tumor vascular architecture during tumor growth and regression. *Microcirculation*.1997; 4: 395-402. [Medline]
166. Gazit Y., Berk D. A., Leunig M., Baxter L. T., Jain R. K. Scale-invariant behavior and vascular network formation in normal and tumor tissue. *Phys. Rev. Lett.*1995; 75: 2428-2431. [Medline]
167. Baish J. W., Gazit Y., Berk D. A., Nozue M., Baxter L. T., Jain R. K. Role of tumor network architecture in nutrient and drug delivery: an invasion percolation-based network model. *Microvasc. Res.*1996; 51: 327-346. [Medline]
168. Smolle J. Fractal tumor stromal border in a nonequilibrium growth model. *Analytical and quantitative cytology and histology* 1998 Feb; 20(1):7-13.
169. Waliszewski P. Distribution of gland-like structures in human gallbladder adenocarcinomas possesses fractal dimension. *J. Surg. Oncol.*1999;71: 189-195. [Medline]
170. Heymans O, Blacher S, Brouers F, Pierard GE. Fractal quantification of the microvasculature heterogeneity in cutaneous melanoma. *Dermatology* 1999;198:212-7.
171. Marinkovic R. Anatomija centralnog nervnog sistema. Novi Sad: Medicinski fakultet Novi Sad; 1985.
172. Losa GA, Nonnenmacher TF. Self-similarity and fractal irregularity in pathologic tissues. *Mod Pathol* 1996; 9(3):174-82.
173. Sedivy R, Windischberger C, Svozil K, Moser E, Breitenacker G. Fractal analysis: an objective method for identifying atypical nuclei in dysplastic lesions of the cervix uteri. *Gynaecological Oncology*. 1999; 75:78-83.
174. Kerenji A, Božovic Z, Tasic M, Budimlija Z, Klem I, Polzovic A. Fractal dimension of hepatocytic nuclei in normal liver vs hepatocellular carcinoma (HCC) in human subjects - preliminary results. *Arch Onc*. 2000; 8(2):47-50.



175. Peng CK, Buldryev SV, Goldeberger AL, Havlin S, Sciortino F, Simons M, Stanley HE. Long - range correlation in nucleotide sequences [letter]. *Nature*. 1992 March 12; 356:168-70.
176. Smith Jr TG, Marks WB, Lange GD, Sheriff Jr WH, Neale EA. A fractal analysis of cell images. *J Neurosci Methods* 1989; 27:173-80.
177. Smith Jr TG, Lange DG. Fractal studies of neuronal and glial cellular morphology. In: Iannaccone PM, Khokha M, editors. *Fractal geometry in 78 biological systems, an analytical approach*. Boca Raton-Ann Arbor-London-Tokyo: CRC Press; 1996. p. 173-87.
178. Neale EA, Bowers LM, Smith TJ Jr. Early dendrite development in spinal cord cell cultures: a quantitative study. *J Neurosci Res*. 1993; 34:54-66.
179. Cross SS, Bury JP, Silcocks PB, Stephenson TJ, Cotton DWK. Fractal geometric analysis of colorectal polyps. *J Pathol*. 1994; 172:317-23.
180. Cross SS, Howat AJ, Stephenson TJ, Underwood JC. Fractal geometric analysis of material from molar and non-molar pregnancies. *J Pathol* .1994; 173(2): 115-8.
181. Fractals and medicine [editorial]. *Lancet*. 1991 Dec; 338:1425-6.
182. Cross SS, Cotton DWK. Chaos and antichaos in pathology. *Human Pathology*. 1994 July; 25(7): 630-6.
183. Pancera F. Fractals and cancer. *Medical Hypothesis*. 1994; 42:400.
184. Sedivy R. Fractal tumours: their real and virtual images. *Wien Klin. Wochenschr*, 1996.
185. Goldeberger AL. Non-linear dynamics for clinicians: chaos theory, fractals, and complexity at the bedside [essay]. *Lancet*. 1996; 347:1312-14.

186. Mission GP, Landini G, Murraz PI. Fractals and ophthalmology [letter]. *Lancet*. 1992 April 4; 339:872.
187. Priebe CE, Solka JL, Lorey RA, et al. The application of fractal analysis to mammographic tissue classification. *Cancer Lett*. 1994; 77(2-3): 183-9.
188. Fazzalari NL, Parkinson IH. Fractal properties of cancellous bone of the iliac crest in vertebral crush fracture. *Bone*. 1998 July; 23(1):53-7.
189. Caligiuri P., Giger ML, Favus M. Multifractal radiographic analysis of osteoporosis. *Med Phys*. 1994; 21(4):503-8.
190. Cross SS. The Application of fractal geometric analysis to microscopic images. *Micron*. 1994. 25(1):101-13.
191. Gough NA. Fractals, chaos and fetal heart rate [letter]. *Lancet* 1992 Jan 18; 339:182-3.
192. Khokha MK, Iannaccone PM. Mosaic pattern in tissues from chimeras. In: Iannaccone PM, Khokha M, editors. *Fractal geometry in biological systems, an analytical approach*. Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo: CRC Press; 1996. p. 189-204.
193. Khokha MK, Landini G, Iannaccone PM. Fractal geometry in rat chimeras demonstrates that a repetitive cell division program may generate liver parenchyma. *Dev Biol* 1994; 165(2):545-55.
194. Long CA, Long JE. Fractal dimensions of cranial sutures and waveforms. *Acta Anat* 1992; 145:201-6.
195. Meakin P. A new model for biological pattern formation. *J theor Biol*. 1986; 118:101-13.
196. Baish J. W., Jain RK. Cancer, angiogenesis and fractals [letter to the editor]. *Nature Medicine* .1998 Sept; 4(9):984.
197. Bergman DL, Ullberg U. Scaling properties of the placenta's arterial tree. *J Theor Biol* 1998; 193:731-8.

198. Cross SS, Start RD, Silcocks PB, Bull AD, Cotton DW, Underwood JC. Quantitation of the renal arterial tree by fractal analysis. *J Pathol.* 1993; 170(4):479-84.
199. Glenny WR, Robertson HT, Yamashiro S, Bassingthwaite JB. Applications of fractal analysis to physiology. *J Appl Physiol.* 1991; 70(6):2351-67.
200. McNamme JE. Fractal perspectives in pulmonary physiology [brief review]. *J Appl Physiol.* 1991; 71(1):8.
201. Goldberger AL. Fractal mechanisms in the electrophysiology of the heart. *IEEE Engineering in medicine and biology* 1992 June; 2(11):47-52
202. Goldeberger AL, Peng C-K, Hausdorff J, Mietus J, Havlin S, Stanley HE. Fractals and the heart. In: Iannaccone PM, Khokha M, editors. *Fractal geometry in biological systems, an analytical approach.* Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo: CRC Press; 1996. p.249-66.
203. West B, Goldeberger AL. Physiology in fractal dimensions. *Am Sci.* 1987 July- August; 75:354-65.
204. Pohlman S., Powell K., Obuchowski N. A., Chilcote W. A., Grundfest-Broniatowski S. Quantitative classification of breast tumors in digitized mammograms. *Med. Phys.* 1996; 23: 1337-1345. [Medline]
205. Lefebvre F., Benali H. A fractal approach to the segmentation of microcalcifications in digital mammograms. *Med. Phys.* 1995; 22: 381-390. [Medline] eds. *Fractal Horizons.* 1996; St. Martin's Press New York: 251-262.
206. Byng J. W., Boyd N. F., Little L., Lockwood G., Fishell E., Jong R. A., Yaffe M. J. Symmetry of projection in the quantitative analysis of mammographic images. *Eur. J. Cancer Prev.* 1996; 5: 319-327. [Medline]
207. Claridge E., Hall P. N., Keefe M., Allen J. P. Shape analysis for classification of malignant melanoma. *J. Biomed. Eng.* 1992; 14: 229-234. [Medline]

208. Caldwell C. B., Stapleton S. J., Holdsworth D. W., Jong R. A., Weiser W. J., Cooke G., Yaffe M. J. Characterisation of mammographic parenchymal pattern by fractal dimension. *Phys. Med. Biol.*1990; 35: 235-247. [Medline]
209. Sedivy R. Fractal tumours: their real and virtual images. *Wien Klin. Wochenschr*, 1996.
210. Peiss J., Verlande M., Ameling W., Gunther R. W. Classification of lung tumors on chest radiographs by fractal texture analysis. *Invest. Radiol.*1996; 31: 625-629. [Medline]
211. Boone J. M., Lindfors K. K., Beatty C. S., Seibert J. A. A breast density index for digital mammograms based on radiologists' ranking. *J. Digital Imaging.*1998; 11: 101-115. [Medline]
212. Sedivy R., Windischberger C. Fractal analysis of a breast carcinoma: presentation of a modern morphometric method. *Wien. Med. Wochenschr.*1998; 148: 335-337. [Medline]
213. Velanovich V. Fractal analysis of mammographic lesions: a prospective, blinded trial. *Breast Cancer Res.*1998; Treat, 49: 245-249. [Medline]
214. Lv D, Guo X, Wang X, Zhang J, Fang J. Computerized characterization of prostate cancer by fractal analysis in MR images. *Journal of Magnetic Resonance Imaging.* 2009;30(1):161-168.
215. Lahmiri S, Boukadoum M. Alzheimer's Disease Detection in Brain Magnetic Resonance Images Using Multiscale Fractal Analysis. *ISRN Radiology.* 2013; 2013:1-7.
216. Marusina MY, Mochalina AP, Frolova EP, Satikov V, Barchuk AA, Kuznetcov VI, et al. MRI image processing based on fractal analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* .2017;18:51–5.10.22034/APJCP.2017.18.1.51.
217. Yang D, Rao G, Martinez J, Veeraraghavan A, Rao A. Evaluation of tumor-derived MRI-texture features for discrimination of molecular subtypes and prediction of 12-month survival status in glioblastoma. *Medical Physics.* 2015;42(11):6725-6735.

218. Reishofer G, Koschutnig K, Enzinger C, Ebner F, Ahammer H . Fractal Dimension and Vessel Complexity in Patients with Cerebral Arteriovenous Malformations. PLoS ONE 2012; 7(7): e41148. doi:10.1371/journal.pone.0041148.
219. Țălu Ș, Stach S, Călugăru DM, Lupașcu CA, Nicoară SD. Analysis of normal human retinal vascular network architecture using multifractal geometry. Int J Ophthalmol 2017;10(3):434-438.
220. Țălu Ș, Vlăduțiu C, Lupașcu CA. Characterization of human retinal vessel arborisation in normal and amblyopic eyes using multifractal analysis. Int J Ophthalmol 2015;8(5):996-1002.
221. Wayne Rasband, ImageJ, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>
222. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, *et al.* Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature methods*. 2012;9(7):676-82.
223. Jimenez J, Lopez AM, Cruz J, Esteban FJ, Navas J, Villoslada P, *et al.* A Web platform for the interactive visualization and analysis of the 3D fractal dimension of MRI data. *J Biomed Inform.* 2014;51:176-90.
224. Youden WJ. Index for rating diagnostic tests. *Cancer*. 1950; 3:32–5.
225. Luetke A, Meyers PA, Lewis I, Juergens H. Osteosarcoma treatment - where do we stand? A state of the art review. *Cancer Treat Rev.* 2014;40(4):523-32.
226. D'Adamo DR. Appraising the current role of chemotherapy for the treatment of sarcoma. *Semin Oncol.* 2011;38 Suppl 3:S19-29.
227. Anninga JK, Gelderblom H, Fiocco M *et al.* Chemotherapeutic adjuvant treatment for osteosarcoma: where do we stand? *Eur J Cancer* 2011;47:2431-2445.
228. Chou AJ, Geller DS, Gorlick R. Therapy for osteosarcoma: where do we go from here? *Paediatr Drugs* 2008;10:315-327

229. Gurney JG, Davis S, Severson RK, Fang JY, Ross JA, Robison LL. Trends in cancer incidence among children in the U.S. *Cancer*. 1996;78(3):532-41.
230. Bielack S, Jürgens H, Jundt G, et al. Osteosarcoma: the COSS experience. *Cancer Treat Res* 2009;152:289–308.
231. Stiller CA, Trama A, Serraino D, et al. Descriptive epidemiology of sarcomas in Europe: report from the RARECARE project. *Eur J Cancer* 2013;49:684–95.
232. Savage SA, Mirabello L. Using epidemiology and genomics to understand osteosarcoma etiology. *Sarcoma*. 2011:548151
233. Ottaviani G, Jaffe N. The epidemiology of osteosarcoma. *Cancer Treat Res*.(2009)152:3-13
234. Cangir A, Vietti TJ, Gehan EA et al. Ewing's sarcoma metastatic at diagnosis. Results and comparisons of two intergroup Ewing's sarcoma studies. *Cancer*. 1990; 66: 887–893.
235. Bernstein ML, Devidas M, Lafreniere D et al. Intensive therapy with growth factor support for patients with Ewing tumor metastatic at diagnosis: Pediatric Oncology Group/Children's Cancer Group Phase II Study 9457—a report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2006;24:152-159.
236. Paulussen M, Ahrens S, Dunst J, Winkelmann W, Exner GU, Kotz R, et al. Localized Ewing tumor of bone: final results of the cooperative Ewing's Sarcoma Study CESS 86. *J Clin Oncol*. 2001;19:1818–29.
237. Bramer JA, van Linge JH, Grimer RJ, Scholten RJ. Prognostic factors in localized extremity osteosarcoma: a systematic review. *Eur J Surg Oncol* 2009; 35: 1030–1036.
238. Ladenstein R, Pötschger U, Le Deley MC et al. Primary disseminated multifocal Ewing sarcoma: results of the Euro-EWING 99 trial. *J Clin Oncol*. 2010;28:3284-3291.
239. Linabery AM, Ross JA. Childhood and adolescent cancer survival in the US by race and ethnicity for the diagnostic period 1975-1999. *Cancer*. 2008;113:2575-2596.

240. Bajpai J, Gannagatti S, Kumar, R., Sreenivas V, Sharma, M. C., Khan, S. A., Rastogi S et al. Role of MRI in osteosarcoma for evaluation and prediction of chemotherapy response: correlation with histological necrosis. *Pediatric radiology* 2011; 41(4), 441–50.
241. Geller DS, Gorlick R. Osteosarcoma: a review of diagnosis, management and treatment strategies. *Clin Adv Hematol Oncol.* 2010;8:705-18.
242. Karperien A, Ahammer H, Jelinek HF. Quantitating the subtleties of microglial morphology with fractal analysis. *Frontiers in cellular neuroscience.* 2013;7:3.
243. Fabrizii M, Moifar F, Jelinek HF, Karperien A, Ahammer H. Fractal analysis of cervical intraepithelial neoplasia. *PloS one.* 2014;9(10):e108457.
244. Huang PW, Lee CH. *IEEE Trans. Med. Imaging.* 2009; 28, 1037
245. Waliszewski P. Computer-Aided Image Analysis and Fractal Synthesis in the Quantitative Evaluation of Tumor Aggressiveness in Prostate Carcinomas. *Frontiers in oncology.* 2016; 6:110.
246. Braverman B, Tambasco M. Scale-specific multifractal medical image analysis. *Computational and mathematical methods in medicine.* 2013; 2013:262931
247. Tambasco M, Eliasziw M, Magliocco AM, J. *Transl. Med.* 2010; 8, 140
248. Vasiljevic J, Pribic J, Kanjer K, Jonakowski W, Sopta J, Nikolic-Vukosavljevic D, et al. Multifractal analysis of tumour microscopic images in the prediction of breast cancer chemotherapy response. *Biomedical microdevices.* 2015;17(5):93.
249. Vasiljevic J, Reljin B, Sopta J, Mijucic V, Tulic G, Reljin I. Application of multifractal analysis on microscopic images in the classification of metastatic bone disease. *Biomed Microdevices [Internet].* 2012 Jun [cited 2013 Dec 1];14(3):541–8.
250. Khosrovi P, Kahn A., Genant H, Majumdar S. Characterization of trabecular bone structure from radiographs using fractal analysis. *Journal of Bone and Mineral Research* 1994; 9, 156–157.

251. Chen DR, Chang RF, Chen CJ, Ho MF, Kuo SJ, Chen ST, et al. Classification of breast ultrasound images using fractal feature. *Clin Imaging*. 2005;29(4):235-45.
252. Li H, Giger ML, Olopade OI, Lan L. Fractal analysis of mammographic parenchymal patterns in breast cancer risk assessment. *Academic Radiology*.2007;14(5)513-521.
253. Tanki, N., Murase, K., Nagao, M. A new parameter enhancing breast cancer detection in computer-aided diagnosis of X-ray mammograms. *Igaku Butsuri*.2006; 26 (4), 207–215.
254. Nguyen T, Rangayyan R., Shape Analysis of Breast Masses in Mammograms via the Fractal Dimension. *Proceedings of the 29th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*.2005; 3,3210-3213
255. Taylor P, Hajnal S, Dillhuydy M, Barreau, B. Measuring image texture to separate “difficult” from “easy” mammograms. *British Journal of Radiology*.1994; 67, 456–463
256. Kestener P, Lina J, Saint-Jean P, Arneodo A. Wavelet-based multifractal formalism to assist in diagnosis in digitized mammograms. *Image Analysis and Stereology*.2004; 20 (3), 169–175.
257. Mavroforakis M., Georgiou H., Dimitropoulos N, Cavouras, D, Theodoridis S. Mammographic masses characterization based on localized texture and dataset fractal analysis using linear, neural and support vector machine classifiers. *Artificial Intelligence In Medicine*.2006; 37, 145–162.
258. Rangayyan R., Nguyen T. Pattern classification of breast masses via fractal analysis of their contours. *Proceedings of Computer Assisted radiology and Surgery (CARS)*.2005; 1281, 1041–1046.
259. Stojic, T, Reljin I, Reljin B. Adaptation of multifractal analysis to segmentation of microcalcifications in digital mammograms. *Phys. A: Stat. Mech. Appl., Elsevier* 2006; 367, 494–508.



260. Bartnykas K. Segmentation of liver region based on multifractal analysis. *Electron. Electr. Eng.* 2010;No. 2(98)
261. Zook J., Iftekharuddin, K. Statistical analysis of fractal-based brain tumor detection algorithms. *Magnetic Resonance Imaging.* 2005; 23 (5), 671–678.
262. Di Giovanni P, Ahearn TS, Semple SI, Lovell LM, Miller I, Gilbert FJ, et al. The biological correlates of macroscopic breast tumour structure measured using fractal analysis in patients undergoing neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat.* 2012;133(3):1199-206.
263. Lopes R.,Betrouni N.Fractal and multifractal analysis:a review.*Med Image Anal.* 2009 Aug;13(4):634-49.
264. Rajkovic N, Kolarevic D, Kanjer K, Milosevic NT, Nikolic-Vukosavljevic D, Radulovic M. Comparison of Monofractal, Multifractal and gray level Co-occurrence matrix algorithms in analysis of Breast tumor microscopic images for prognosis of distant metastasis risk. *Biomedical microdevices.* 2016;18(5):83.
265. Cheon, G. J., Kim, M. S., Lee, J. A., Lee, S.-Y., Cho, W. H., Song, W. S., Koh, J.-S., et al. Prediction model of chemotherapy response in osteosarcoma by 18F-FDG PET and MRI. *Journal of nuclear medicine: official publication, Society of Nuclear Medicine* 2009; 50(9), 1435–40
266. Kubota D, Mukaihara K, Yoshida A, Tsuda H, Kawai A, Kondo T. Proteomics study of open biopsy samples identifies peroxiredoxin 2 as a predictive biomarker of response to induction chemotherapy in osteosarcoma. *Journal of proteomics.* 2013;91:393-404.
267. Martin JW, Chilton-MacNeill S, Koti M, van Wijnen AJ, Squire JA, Zielenska M. Digital expression profiling identifies RUNX2, CDC5L, MDM2, RECQL4, and CDK4 as potential predictive biomarkers for neo-adjuvant chemotherapy response in paediatric osteosarcoma. *PloS one.* 2014;9(5):e95843.

268. Carrasco CH, Charnsangavej C, Raymond AK, et al. Osteosarcoma angiographic assessment of response to chemotherapy. *Radiology*. 1989;170:839-842.
269. Fujii J, Ozaki T, Kawai A, Kunisada T, Sugihara S, Inoue H. Angiography for assessment of preoperative chemotherapy in musculoskeletal sarcomas. *Clin Orthop*. 1999;360:197-206.
270. Kumpan W, Lechner G, Wittich GR, et al. The angiographic response of osteosarcoma following pre-operative chemotherapy. *Skeletal Radiol*. 1986;15:96-102.

## **SPISAK SKRAĆENICA**

**AP** - antero-posteriorno

**AUC**- *Area under the curve* -površina ispod ROC krive

**CT** - *Computed tomography* kompjuterizovane tomografija

**ESA** - Ewing-ov sarkom - *Ewing sarcoma*

**HP** - Histopatološki

**KK** - kranio-kaudalno

**LDH** - laktat dehidrogenaze

**LL** - latero-lateralno

**MAP** - *Doxorubicin (Adriamycin) + Cisplatin, visokodozni Methotrexate*

**MF** - multifraktalni

**MFA** multifraktalna analiza

**MR** - Magnetna rezonanca

**MRI** - *Magnetic resonance imaging*

**OSA** - Osteosarkom – *Osteosarcoma*

**PET** - *Positron emission tomography* (Pozitron emisiona tomografija)

**PET-CT** - *Positron emission tomography* (PET)/ *Computed tomography* (CT) (Pozitron emisiona tomografija–kompjuterizovana tomografija )

**ROC** - *receiver operating characteristic curve*

**ROI** - region of interest

**Rtg** - Radiografija

**SPECT** - *Single-photon emission computed tomography*

**TEMIRI** -*Temozolomide* i *Irinotecan*

**VAI** -*Aktinomycin D* , *Ifosfamide*, *Etoposide*.

**VIDE** -*Vincristine*, *Doxorubicin* , *Etoposide*, *Ifosfamide*

**18F-FDG PET/CT - 18F FDG - 2-deoxy-2-[fluorine-18]fluoro- D-glucose**

integrated with computed tomography

**1GBe** - slika sive skale na beloju pozadini

**2GW** - slika sive skale na beloju pozadini

**3BWe** - binarna slika popunjena crnim pikselima

**4Bbe** - inverzna binarna slika

## BIOGRAFIJA

Goran Đuričić rođen je u Beogradu 09.07.1975.godine. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu upisao je 1994. godine, a završio 2001.god. sa prosečnom ocenom 8,60.

Specijalizaciju iz radiologije na Medicinskom fakultetu u Beogradu započeo je 2004.god. i završio je 2009.god. sa odličnom ocenom. Magistarsku tezu pod nazivom „Učestalost i karakteristike radioloških znakova koštanih promena nastalih usled fizičkog nasilja nad decom“, odbranio je 2010.god. na Medicinskom fakultet Univerziteta u Beogradu.

Autor je zaposlen na odeljenju Radiološke dijagnostike Univerzitetske dečje klinike u Beogradu od 2003. godine. Oblasti posebnog interesovanja autora su pedijatrijska radiologija, radiologija muskuloskeletnog sistema, radiološka dijagnostika sportskih povreda i kompjuterska analiza medicinskih slika. Stručna usavršavanja iz ovih oblasti su bila: *Pediatric Radiology seminar, Salzburg, 2011. god.*, *Summer School on Image Processing (SSIP 2012) and Medical Image Analysis, visualization and Retrieval- at Technical University of Vienna and Medical University of Vienna, Austria: 2012. god.* i *Central European Exchange Program for University Studies (CEEPUS) Division of Pediatric Radiology and Research Unit of Digital information and Imaging Processing, Department of Radiology, Medical University Graz, Austria 2013.god.*

Autor je aktivni član Srpskog lekarskog društva od 2001.god; Radiološke sekcije Srpskog lekarskog društva od 2010. god; Evropskog udruženja radiologa (*ESR-European Society of Radiology*) od 2011.god; Evropskog udruženja pedijatrijske radiologije (*ESPR-European Society of Paediatric Radiology*) od 2012.god; član je i lokalni koordinator CEEPUS ("*Central European Exchange Program for University Studies*") od 2012. god. Kao aktivni član *Telecommunications Committee* unutar Svetske federacije pedijatrijskog imidžinga WFPI (*World Federation of Pediatric Imaging*) je angažovan od 2012. god. Aktivno članstvo uzeo je i u Evropskom udruženju muskuloskeletne radiologije (*ESSR-European Society of Musculoskeletal Radiology*) od 2017.god.

Goran Đuričić je svoj dosadašnji naučnoistraživački rad ostvario kao autor u devet publikovanih radova, predavač u Evropskoj školi pedijatrijske radiologije, predavač u Školi muskuloskeletne radiologije, predavač po pozivu na nacionalnim kongresima radiologije i dečje hirurgije, kao i aktivni učesnik kongresa EMSOS (*European Musculo-Skeletal Oncology Society*).

Prilog 1.

## Izjava o autorstvu

Potpisani-a Goran J. Đuričić

broj upisa \_\_\_\_\_

### Izjavljujem

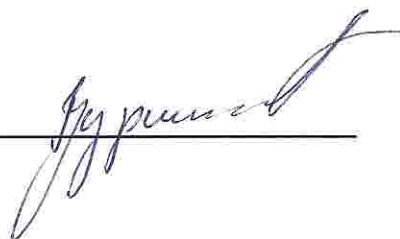
da je doktorska disertacija pod naslovom:

„ZNAČAJ MULTIFRAKTALNE ANALIZE SNIMAKA MAGNETNE REZONANCE  
U PROCENI ODGOVORA NA HEMIOTERAPIJU KOD PRIMARNIH  
KOŠTANIH NEOPLAZMI“

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 17.04.2018.

  
\_\_\_\_\_

**Prilog 2.**

**Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije  
doktorskog rada**

Ime i prezime autora      Goran J. Đuričić

Broj upisa \_\_\_\_\_

Studijski program \_\_\_\_\_

Naslov rada „ZNAČAJ MULTIFRAKTALNE ANALIZE SNIMAKA MAGNETNE  
REZONANCE U PROCENI ODGOVORA NA HEMIOTERAPIJU KOD  
PRIMARNIH KOŠTANIH NEOPLAZMI“

Mentor: Prof. dr Jelena Sopta

Komentor: Doc. dr Marina Nikitović

Potpisani  \_\_\_\_\_

Potpisani  \_\_\_\_\_

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu.**

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis doktoranda**

U Beogradu, 17. 04. 2018.

 \_\_\_\_\_

**Prilog 3.**

## **Izjava o korišćenju**

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

**„ZNAČAJ MULTIFRAKTALNE ANALIZE SNIMAKA MAGNETNE REZONANCE U PROCENI ODGOVORA NA HEMIOTERAPIJU KOD PRIMARNIH KOŠTANIH NEOPLAZMI“**

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

U Beogradu, 17. 04. 2018.

**Potpis doktoranda**

