

БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ



**ИНСТИТУТ ПО ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА МОРФОЛОГИЯ,
ПАТОЛОГИЯ И АНТРОПОЛОГИЯ С МУЗЕЙ**



Директор: проф. Светлозара Петкова, доктор

СИЛВИЯ ЯНАКИЕВА НИКОЛОВА

МЕДИКО-БИОЛОГИЧНИ АСПЕКТИ НА ЧЕРЕПНИТЕ ШЕВОВЕ: МИКРОСТРУКТУРА, ФИЗИОЛОГИЧНО ЗАТВАРЯНЕ, МЕТОПИЗЪМ

АВТОРЕФЕРАТ

**НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА НАУЧНАТА СТЕПЕН
„ДОКТОР НА НАУКИТЕ“**

**ОБЛАСТ НА ВИСШЕ ОБРАЗОВАНИЕ: 4. ПРИРОДНИ НАУКИ,
МАТЕМАТИКА И ИНФОРМАТИКА**

ПРОФЕСИОНАЛНО НАПРАВЛЕНИЕ: 4.3. БИОЛОГИЧЕСКИ НАУКИ

НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ: АНТРОПОЛОГИЯ (01.06.01)

СОФИЯ, 2023

Дисертационният труд е написан на 251 страници, онагледен е с 71 фигури и 28 таблици и са цитирани 378 литературни източника.

Дисертационният труд е одобрен и насочен за защита на разширено заведение на секция “Антропология и анатомия”, назначено от Директора на ИЕМПАМ-БАН със заповед № РД-09-35 от 30.06.2023 г. и проведено на 11.07. 2023 г.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 07.11.2023 г. от 13:00 часа в заседателна зала **"Акад. Ксенофонт Иванов"** в сградата на ИЕМПАМ-БАН (гр. София, ул."Акад. Г. Бончев", бл.25) на открито заседание на Научното жури, назначено от Директора на ИЕМПАМ-БАН със заповед № РД-09-37 от 27.07.2023 г., в състав:

Председател на научното жури:

Проф. д-р Димитър Стефанов Кадийски, дмн (ИЕМПАМ - БАН)

Вътрешни членове:

Чл.-кор. проф. Нина Недева Атанасова, дбн (ИЕМПАМ - БАН) – становище

Проф. д-р Димитър Стефанов Кадийски, дмн (ИЕМПАМ - БАН) – становище

Проф. Светлозара Любомирова Петкова, доктор (ИЕМПАМ - БАН) – становище

Външни членове:

Проф. д-р Стефан Тодоров Сивков, доктор (МФ на МУ-Пловдив) – рецензия

Проф. д-р Димитър Петков Сиврев, доктор (МФ на ТрУ-Стара Загора) – рецензия

Проф. д-р Лазар Желев Славов, доктор (МФ на МУ-София) – рецензия

Проф. д-р Дора Константинова Златарева, доктор (МФ на МУ-София) – становище

Материалите за защитата се намират на разположение на интересуващите се в канцеларията на ИЕМПАМ-БАН.

Изказвам благодарност:

на Ръководството на ИЕМПАМ-БАН за подкрепата и ценните съвети, както и за пълното административно съдействие;

на ИИКТ-БАН за осигурения достъп и възможността за работа със специализирана техника и софтуери за генериране и обработка на дву- и тримерни изображения във връзка с реализирането на съвместни научно-изследователски проекти;

на колегите, с които съвместно осъществихме изследванията, включени в дисертационния труд, както и на тези, които ми помогнаха с оформлението и финализирането му;

на членовете на Научното жури за положителната оценка на труда;

Списък на използваните съкращения

AI – Artificial Intelligence

CS – Centroid Size

CT – Computed Tomography

CVA – Canonical Variate Analysis

D – *Diploë*

DM – Data Mining

ET – External Table

GM – Geometric Morphometrics

GPA – Generalized Procrustes Analysis

ICC – Intraclass Correlation Coefficient

IT – Internal Table

k-NN – k-Nearest Neighbors

LOOCV – Leave-One-Out Cross-Validation

LR – Linear Regression

μCT – micro-Computed Tomography

ML – Machine Learning

OA – Окципитализация на атласа

PC – Principle Components

PCA – Principal Component Analysis

R^2 – Coefficient of Determination

RMSE – Root Mean Square Error

ROI – Region of Interest

S1 – *Pars bregmatica suturae sagittalis*

S2 – *Pars complicata suturae sagittalis*

S3 – *Pars obelica suturae sagittalis*

S4 – *Pars lambdica suturae sagittalis*

SS – *Sutura sagittalis*; Sagittal Suture

I. Увод

Процесите на формиране, функциониране и затваряне на шевове на черепния свод са критични за нормалната морфогенеза на черепа. Разкриването на молекулните сигнални пътища и клетъчните механизми, които управляват тези процеси, заема основна част от изследванията, посветени на изучаването на биологията на черепните шевове. Физиологичното затваряне на черепните шевове и факторите, които водят до нарушаване на финия баланс между пролиферацията, диференциацията и апоптозата на мезенхимните клетки в центъра на функциониращия шев, също са обект на редица изследвания. В това отношение особен интерес представлява метопичният шев, който е единственият шев на черепния свод, затварящ се физиологично преди подлежащите дялове на главния мозък да приключат активното си нарастване. Въпреки че основните механизми, които управляват самия процес на затваряне на метопичния шев, са добре проучени, въпросът какво обуславя това ранно програмирано затваряне остава без ясен отговор до момента.

Немалко изследвания се занимават и с изучаването на преждевременното затваряне на черепните шевове (краниосиностоза), което е свързано с различни нарушения във функционирането на шева и не винаги е еднозначно на нормално физиологично затваряне, настъпващо по-рано в онтогенезата. Често краниосиностозата е свързана със сериозни структурни деформации в строежа на черепа, които от своя страна пораждат функционални нарушения.

За разлика от преждевременното затваряне, отложеното затваряне на черепните шевове по-рядко се свързва със сериозна клинична симптоматика, поради което остава сравнително слабо изучено състояние. Персистиращият метопичен шев (метопизъм) се приема за безвредна анатомична вариация и е добре познат като честота на срещане сред различни популационни групи. Същевременно, факторите, които са отговорни за потискане на програмираното ранно физиологично затваряне на метопичният шев, както и цялостната черепна морфология при метопизъм, остават изключително слабо проучени. Ето защо сред основните ни цели е прилагането на съвременни интердисциплинарни подходи за извършаване на сравнителни морфологични изследвания на хомогенни метопични и контролни черепни серии, за да се потърсят отговори на многобройните неизяснени до момента въпроси относно метопизма.

II. Литературен обзор и анотация на изследванията

Прегледът на литературата включва обобщени данни за нормалното развитие на черепния свод и отклонения от него, свързани с преждевременно или отложено затваряне на черепните шевове. Той е структуриран както следва:

1. Обобщени данни за морфогенезата на черепния свод. Направен е преглед на основните етапи във формирането на твърдата мозъчна обвивка и базалните рефлексии, костите и шевове на черепния свод и физиологичното затваряне на черепните шевове; разгледани са молекулната сигнализация и основните клетъчни механизми, управляващи формирането, функционирането и затварянето на черепните шевове; краниосиностозата е обсъдена като комплексно патологично състояние.

2. Метопичен шев. Обсъдени са формирането, функционирането, физиологичното и преждевременното затваряне (метопична краниосинистоза) на метопичния шев.

3. Метопизъм. Дискутирани са дефиницията и честотата на срещане на метопизъм, конфигурацията на черепа и неговите дялове при метопизъм, влиянието на метопизма върху затварянето на останалите черепни шевове, връзката между метопизъм и степента на пневматизацията на челния синус, както и метопизмът в комбинация с други анатомични вариации и асоциация с патологични състояния.

4. Анотация на изследванията. Основните механизми, които регулират формирането, функционирането и затварянето на черепните шевове все още не са напълно изяснени и продължават да са обект на активно изследване. Клиничното значение на черепните шевове се свързва основно с промяна в техния присъщ остеогенен потенциал. Преждевременното затваряне на шевове (краниосиностоза), като състояние, което често предизвиква структурни изменения и функционални нарушения и налага хирургично remodelиране на черепната кухина, закономерно заема централно място сред тези изследвания. Забавеното затваряне на черепните шевове, и по-конкретно метопизмът, се приема за безвредна анатомична вариация, рядко се свързва с определена клинична симптоматика и по тази причина остава слабо проучено състояние.

Метопизмът е добре познат като честота на срещане, но все още не са изяснени както факторите, които го предизвикват и медиират, така и възможните промени в черепната морфология, които индуцира. Към момента липсва яснота по редица съществени въпроси, свързани с метопичния шев и метопизма. На първо място, липсва

единна хипотеза за това, какво налага програмираното, ранно затваряне единствено и само на метопичния шев, за разлика от всички останали шевове на черепния свод, и то преди приключването на периода на активно нарастване на подлежащите фронтални дялове на главния мозък. От друга страна, при метопизъм не е изяснено какво предизвиква потискането на това програмирано физиологично затваряне на метопичния шев и кои са факторите, които регулират и управляват този процес. Липсва отговор и на въпроса дали тези фактори действат локално върху метопичния шев, в областта на челната кост, или оказват влияние и върху останалите шевове на черепния свод. Наблюдавано е, че при метопични черепи венечният и сагиталният шевове са отворени и в напреднала възраст, но липсват конкретни изследвания, които да дадат яснота по този въпрос. А всъщност обхватът на действие на факторите, които потискат затварянето на метопичния шев, се оказва водещ за това дали метопизмът би следвало да се разглежда като локална анатомична вариация, ограничена в рамките на челната кост, или като проява на генерализирано състояние, което повлиява интрамембранното костно формиране. Тук следва да се отбележи, че метопичните черепи нерядко демонстрират допълнителни анатомични вариации, най-често свръхбройни кости в черепния свод, а самият персистиращ метопичен шев, както и в комбинация с множество Вормиеви кости, е съпътстващ белег при някои генетично обусловени заболявания, засягащи остеогенезата.

Поради ключовата роля на шевовете в морфогенезата на черепа, всяко отклонение от обичайните срокове на тяхното формиране, функциониране и затваряне има отражение върху черепната морфология. Краниосиностозата е показателна за директната връзка между преждевременното затваряне на шева и абнормалната конфигурацията на черепа. Метопизмът би могъл да се разгледа като противоположен процес, което повдига въпроса дали аналогично на изолираната краниосиностоза, персистиращият метопичен шев също е свързан със специфична модификация в черепната морфология. Описани са общи наблюдения за определени различия в конфигурацията на черепния свод при метопизъм, но липсват целенасочени изследвания на това дали поддържането на функциониращ шев, който нормално следва да се затвори, т.е. съхраняването на активна остеогенна зона, която позволява костно формиране, оказва значимо влияние върху цялостната морфология на черепа при индивиди с метопизъм. Трябва да се подчертае, че черепните свод и основа осифицират по различен механизъм, но се развиват интегрирано, а черепната основа се

явява водеща при формирането на черепния свод. Метопизмът хипотетично се свързва с модификация в черепния свод, но липсват каквито и да е наблюдения относно черепната основа при това състояние. Не на последно място следва да се проучи и развитието на челния синус при персистиращ метопичен шев, който се предполага, че възпрепятства пневматизацията в челната кост.

Казаното дотук демонстрира колко слабо познато състояние е метопизмът всъщност. Същевременно всичко сочи, че метопизмът следва да се разгледа като едно комплексно състояние, т.е. като следствие/израз на смущение в развитието, а не като предпоставка за различия в черепната морфология. Това ясно очертава необходимостта да се планират и проведат редица сравнителни изследвания при хомогенни и статистически представителни метопични и контролни черепни серии, а събраните данни да се анализират и интерпретират с помощта на съвременни и интердисциплинарни подходи.

III. Цел и задачи

Целта на дисертационния труд е да се проучат микроструктурата и физиологичното затваряне на черепните шевове и да се оценят спецификите в черепната морфология при метопизъм.

За реализирането на целта са формулирани следните **задачи**:

1. Да се опише микроструктурата на черепните шевове и да се проследи реорганизацията им в процеса на затваряне;
2. Да се изследва корелацията между физиологичното затваряне на шеговете и възрастта на индивида;
3. Да се установят темповете на затваряне на черепните шевове при метопизъм;
4. Да се изследва черепната морфология при метопизъм;
5. Да се изследва степента на пневматизация на челния синус при метопизъм;
6. Да се проучи проявлението на анатомични вариации и патологични състояния при метопизъм.

IV. Материал и методи

1. Материал

1.1. Материал от остеологичната колекция на ИЕМПАМ-БАН.

Изследвани са отделни черепи, които имат отношение към темата на дисертацията.

1.2. Материал от костницата към НВИМ, София.

Сравнителните морфометрични изследвания са извършени изцяло върху съвременна серия от черепи на израснали мъжки индивиди, принадлежащи на войници, загинали в двете балкански войни и първата световна война, които се съхраняват във Военния мавзолей-костница към Националния военно-исторически музей, София. Черепите са групирани в две серии: метопична и контролна серия. Черепите от метопичната серия са с изцяло запазен метопичен шев, който се разполага от *nasion* до *bregma*. Контролната серия съдържа черепи, при които липсват всякакви следи от метопичен шев.

2. Методи

Морфометричните анализи са извършени изцяло във виртуалното пространство след генериране на двумерни и тримерни изображения на изследваните черепи.

2.1. Дигитализиране на изследвания материал

За снемане на дигитални радиографии и генериране на обемни тримерни изображения на черепите е използвана индустриална микро-компютърна томографска (μСТ) система **Nikon XT H 225**, произведена от Nikon Metrology. Системата позволява едновременно двумерна и тримерна визуализация на обектите, като генерираните изображения са с висока пространствена резолюция.

2.1.1. Дигитална радиография

Използваната μСТ система позволява визуализация на изследвания обект в реално време, снемане на радиографски проекции и запазването им в подходящ снимков формат. Дигиталните радиографски проекции на черепите са снети при оптимални параметри, установени на база проба-грешка. Тези параметри варират в широки граници в зависимост от индивидуалната радиоплътност на всеки череп (85-144 kV анодно напрежение; 80-176 μА аноден ток; 500-708 ms експозиционно време). Всички радиографски проекции са запазени като Tagged Image File Format (TIFF).

2.1.2. Генериране на обемни тримерни изображения

Използваната μ СТ система сканира обекта докато той постепенно и на равен брой стъпки се завърти на 360° . На всяка стъпка от завъртането се сема рентгенографско дигитално изображение, което се запазва в .TIFF формат. По този начин, докато обектът се завърти напълно (360°), се генерира серия от двумерни рентгенографски проекции под множество различни ъгли. Интензитетът на сиво от проекциите дава информация за радиоплътноста на обекта във всяка една точка (пиксел). На базата на тази информация и с помощта на специализиран софтуер, от двумерните изображения се реконструира обемно тримерно изображение на обекта.

2.1.3. Генериране на полигонални тримерни модели

Черепите са сканирани с ръчен лазерен скенер **Creaform VIUscan** (Creaform Inc., Quebec, Canada). Скенерът е разработен за целите на “обратното инженерство” (reverse engineering), което гарантира, че получените 3D данни са с висока прецизност и точност. По данни на производителя, скенерът е с точност от 50 μ m. Всички черепи са сканирани с резолюция от 0.4 мм и резолюция на текстурата от 150 DPI.

2.2. Събиране на данни - дигитална морфометрия

За всяко отделно изследване е изготвена програма от краниометрични точки. Тримерните координати на точките са снети с помощта на компютърна програма MeshLab version 2016.12 (Cignoni et al., 2008), като е използвана функцията „Pick Point“. Линеините черепни размери са изчислени като Евклидови разстояния между съответните краниометрични точки. Евклидовите разстояния са изчислени с помощта на компютърна програма PAST version 2.17c. (Hammer et al., 2001). Ъглите на триъгълниците са изчислени на база на дължините на страните на триъгълниците чрез Косинусовата теорема. Площта на изследваните триъгълници е изчислена посредством Хероновата формула.

2.3. Обработка и анализ на данните

2.3.1. Класически статистически анализи

2.3.1.1. Оценка на грешката при отчитане

2.3.1.2. Дескриптивна статистика

2.3.1.3. Тестове за нормалност на разпределението и еднаквост на дисперсиите на променливите

2.3.1.4. Статистически тестове за проверка на хипотези

2.3.1.5. Корелационен анализ

2.3.1.6. Регресионен анализ

2.3.1.7. Дискриминантен анализ

2.3.1.8. Оценка на точността за работата на създадените модели:

2.3.2. Геометрична морфометрия

2.3.2.1. Размер на центроида

2.3.2.2. Генериране на ковариационни матрици

2.3.2.3. Многомерни статистически анализи

2.3.2.4. Многовариантна регресия

2.3.2.5. Визуализация на резултатите

2.3.3. Изкуствен интелект (AI), машинно обучение (ML) и извличане на знания от данни (DM)

2.3.3.1. Селекция на атрибути

2.3.3.2. Научаване на модели

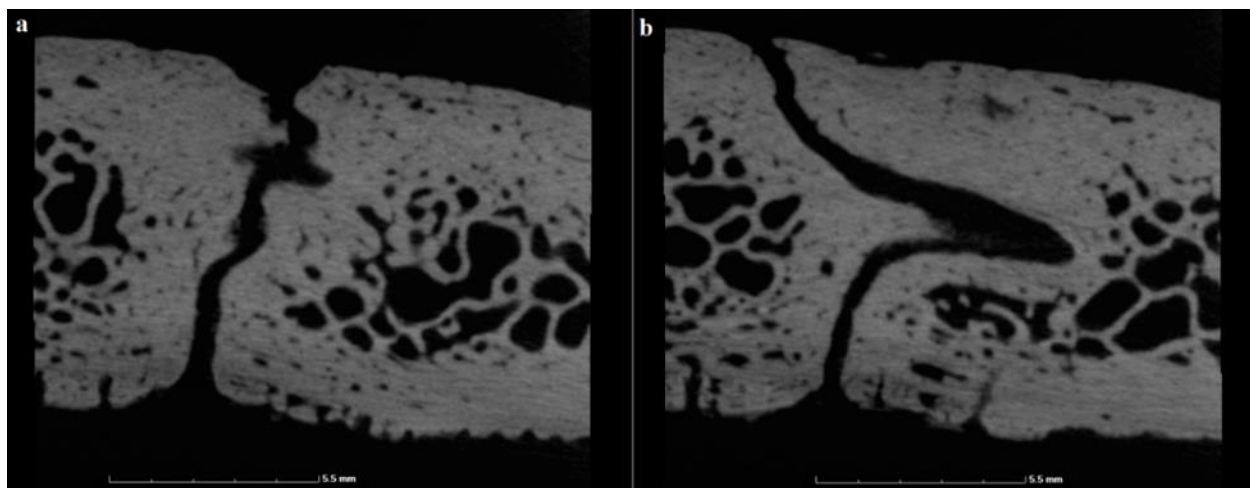
V. Резултати и обсъждане

1. Микроструктура на шева

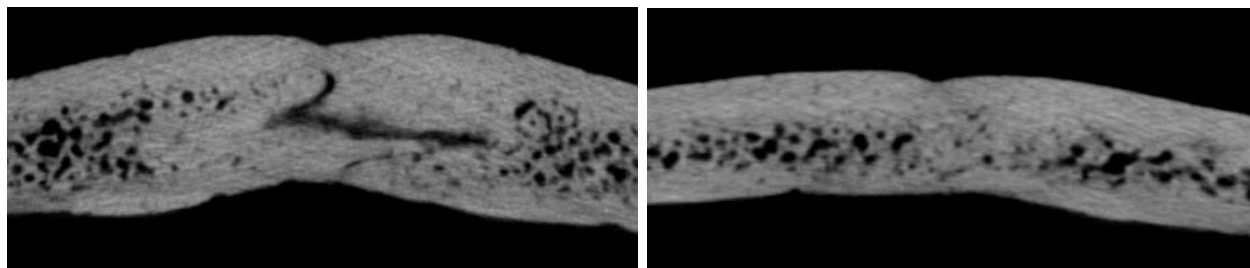
Микроструктурата на шева е изследвана върху сканирани сегменти от сагитален шев на 4 израснали мъжки индивиди с известна възраст при смъртта (34, 43, 46 и 47 г.) от костницата към НВИМ-София. Сканирането е извършено с μ СТ система Nikon XTH 225, като е приложена „region-of-interest“ техника на сканиране. Генерираните обемни тримерни изображения са с висока пространствена резолюция, която позволява изчисляването на основни морфометрични параметри на костната тъкан директно от изображенията, като: костна обемна фракция (Bone Volume Fraction, BV/TV), съотношението на сегментирания обем кост към общия обем на ROI или процентът от ROI зает от кост; съотношение на сегментираната костна повърхност към сегментирания костен обем (Ratio of Bone Surface to Bone Volume, BS/BV); дебелина на трабекулите (Trabecular Thickness, Tb.Th), средна дебелина на трабекулите, оценена с помощта на директни 3D методи; брой трабекули (Trabecular Number, Tb.N), измерване на средния брой трабекули на единица дължина; трабекуларно разделяне (Trabecular Separation, Tb.Sp), средно разстояние между трабекулите, оценено с помощта на директни 3D методи;

степен на анизотропия (Degree of Anisotropy, DA), мярка за 3D симетрия или наличието или липса на преференциално подравняване на структурите по конкретна насочена ос, като приема стойности в диапазона от 0 (изотропно) до 1 (анизотропно). Получените резултати показват, че затворените участъци от сагиталния шев съдържат повече костно вещество и по-малко повърхностна площ в сравнение с отворените, аналогично на резултатите, получени от Sherick et al. (2000) при сравнение на отворени и преждевременно синостозирали шевове. В затворените фрагменти трабекулите са по-дебели, имат относително по-висока плътност и са разположени по-отдалечено, отколкото в отворения шев. Анизотропията като количествена мярка за трабекуларната поляризация показва, че затворените фрагменти са с „по-малко подреденост” в сравнение с отворените.

Наблюдава се, че при напълно отворен сагитален шев костните ръбове са компактни, раздалечени един от друг и следват комплементарен модел на интердигитация (Фиг. 1). Със съзряването на сагиталния шев, костните ръбове постепенно се доближават, влизат в контакт, сливат се и полето на шева се ремоделира до трислойната структура на околните плоски черепни кости (Фиг. 2). В последния етап вътрешната и външната пластинки са плътни и непрекъснати, а костните ръбове на нивото на диплоето са изцяло ремоделирани до трабекуларна кост. Процесът на затваряне на сагиталния шев обикновено напредва от вътрешната пластинка, през диплоето към външната пластинка, но е неравномерен и може да бъде инициран във всеки един от трите слоя, което поражда множество изключения от общото правило. По този начин не е изключение да се наблюдава широко отворена вътрешна пластинка, но почти или изцяло слети диплое и външна пластинка, големи разстояния между затворените вътрешна и външна пластинки и други нетипични случаи. Също така, във всеки един от костните слоеве на напълно затворен шев могат да се наблюдават празни пространства (кухини) с различен обем. Освен това затварянето започва и се разпростира едновременно по цялата дължина на шева, т.е. няма предефинирано място на инициация. Нашите наблюдения върху морфологията и реорганизацията на сагиталния шев по време на затварянето му са в съответствие с и потвърждават заключенията от предишни проучвания, като внасят някои съществени и важни допълнения.



Фигура 1. μ СТ томограми на отворен сагитален шев в коронално сечение



Фигура 2. μ СТ томограми на сагитален шев в напреднал и почти приключил етап на облитерация

2. Физиологично затваряне на шевовете и хронологична възраст на индивида

2.1. Сагитален шев

Връзката между физиологичното затваряне на сагиталния шев и възрастта е изследвана при общо 88 (68 – изследвана серия, 20 – контролна серия) черепа на израснали мъжки индивиди с известна възраст при смъртта (20-58 г.; разпределени в 7 възрастови групи през интервал от 5 години) от костницата към НВИМ-София. Черепите са сканирани с μ СТ система Nikon XT H 225. На базата на наблюдаваната реорганизация на ръбовете на съседните черепни кости е разработена оригинална описателна скала за отчитане на степента на затваряне на шева в напречно сечение на нивото на всеки един от трите слоя – вътрешната пластинка (*lamina interna*; en. Internal Table, IT), диплоето (*diploë*, D) и външната пластинка (*lamina externa*; en. External Table, ET). Във всеки от трите слоя контактът между ръбовете е оценен по 4-степенна скала (Фиг. 3) съответно като: отворен (0) – ръбовете са компактни и разделени помежду си с голям интервал; начална облитерация (1) – ръбовете са компактизирани и близко разположени, но помежду им все

още се наблюдава малък интервал; напреднала облитерация (2) – изчезващи контури на контакта между съседните ръбове; затворен шев (3) – областта на шева е изцяло ремоделирана и хомогенна, отговаряща на трислойната структура на плоските черепни кости. Предложената система за отчитане дава възможност контактът на ръбовете да бъде оценен независимо във всеки слой, което позволява коректно отчитане на степента на затваряне на сагиталния шев и в „нетипични“ случаи.

Получените оригинални резултати демонстрират, че облитерацията на сагиталния шев най-често, но не задължително, се инициира в IT и протича в посока от ендо- към ектокраниалната повърхност (IT-D-ET) (Фиг. 4). Установи се още и, че точката на инициация не е строго фиксирана, а по-скоро затварянето започва едновременно по дължината на шева и може да възникне на нивото на всеки от трите слоя, затова се наблюдават и редица изключения от основния ход на облитерация (IT-D-ET).

Като цяло затварянето на сагиталния шев е по-интензивно до 30-годишна възраст, след което процесът продължава с по-бавни темпове. Освен това, затварянето напредва с различни темпове в различните костни слоеве и сегменти. По отношение на костните слоеве, затварянето в D и ET е по-неравномерно, докато това в IT е сравнително по-равномерно. Затварянето на сагиталния шев по сегменти е най-активно в областта S2, като с напредване на възрастта се разпростира в S1 и S3 и накрая, в напреднала възраст, и в S4.

Прилагайки разработения от нас оригинален подход, установихме статистически значими положителни корелации между възрастта и степента на затваряне, както на целия сагитален шев, така и поотделно във всеки участък (S1, S2, S3, S4) и слой (IT, D, ET). На базата на тази връзка построихме регресионни модели (Фиг. 5) за определяне на възрастта по степента на затваряне във всеки от слоевете на сагиталния шев, като най-точен се оказва моделът, разработен за ET (Табл. 1). Направената проверка на разработените регресионни модели, приложени върху извадката, използвана за тяхното разработване, показва, че доверителният интервал, при който възрастта може да се определи без статистически значимо различие с реалната възраст, е най-тесен за IT (40-44 години), следван от D (35-44 години) и от ET (30-44 години). Прилагането на регресионните модели върху външната извадка показва, че преди навършване на 35-годишна възраст IT и ET са най-надеждни за прогнозиране на възрастта, докато на възраст над 36 години по-информативни са D, ET, както и комбинацията от всички слоеве. Разгледано според сегментите на сагиталния шев,

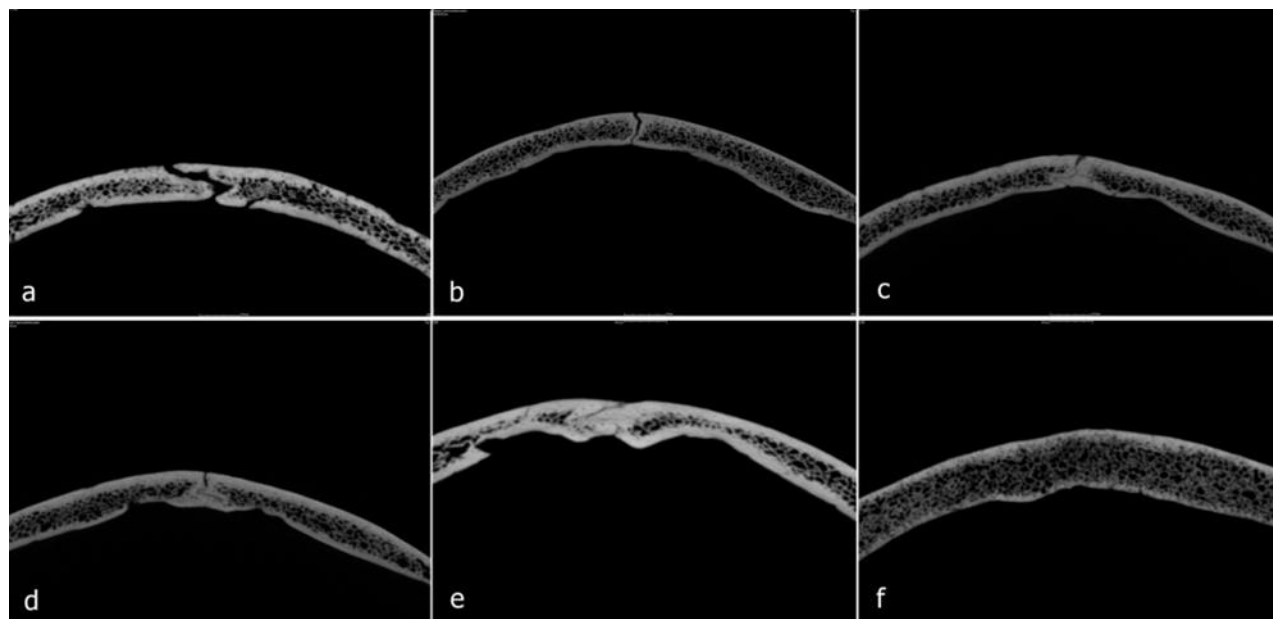
преди 35 години най-подходящ за определяне на възрастта е участъкът S3, след което всеки от участъците е еднакво информативен.

Таблица 1. Регресионни модели за определяне на възрастта по затварянето на сагиталния шев във всеки от слоевете

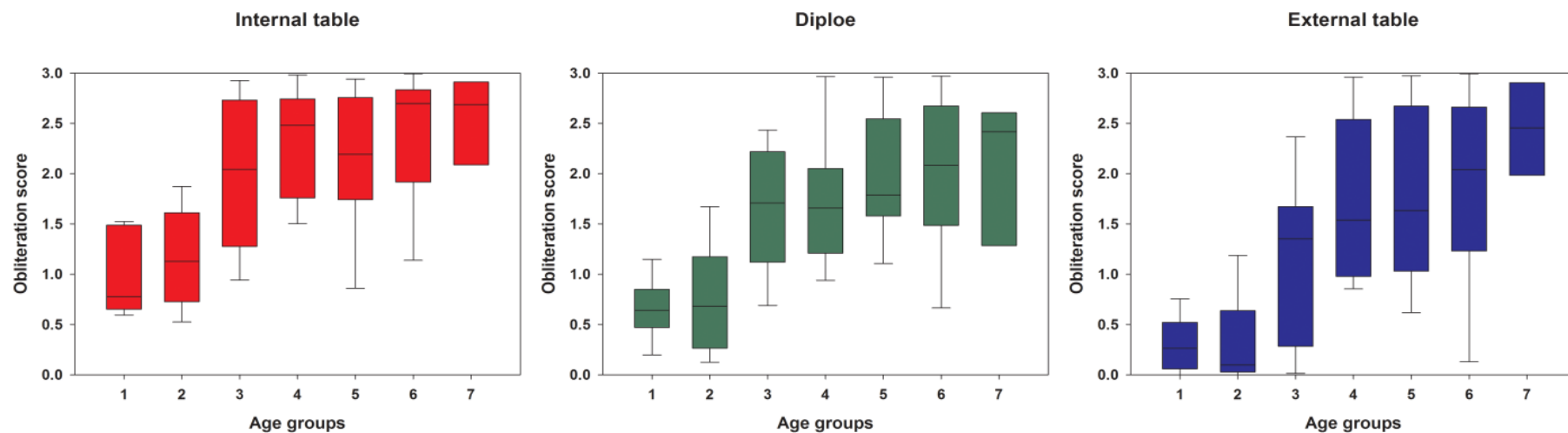
Bone layer	n	Regression model	R^2	p-value	SEE /in years/	95 % prediction interval (years)	95 % prediction range (years)
IT	68	Age = 8.360*IT + 20.172	0.448	<0.001	±7.529	±15.25	21.01 - 51.51
D	68	Age = 7.976*D + 23.890	0.416	<0.001	±7.745	±15.69	20.58 - 51.95
ET	68	Age = 7.384*ET + 26.536	0.539	<0.001	±6.878	±13.93	22.33 - 50.20

R^2 – coefficient of determination; SEE – standard error of estimate

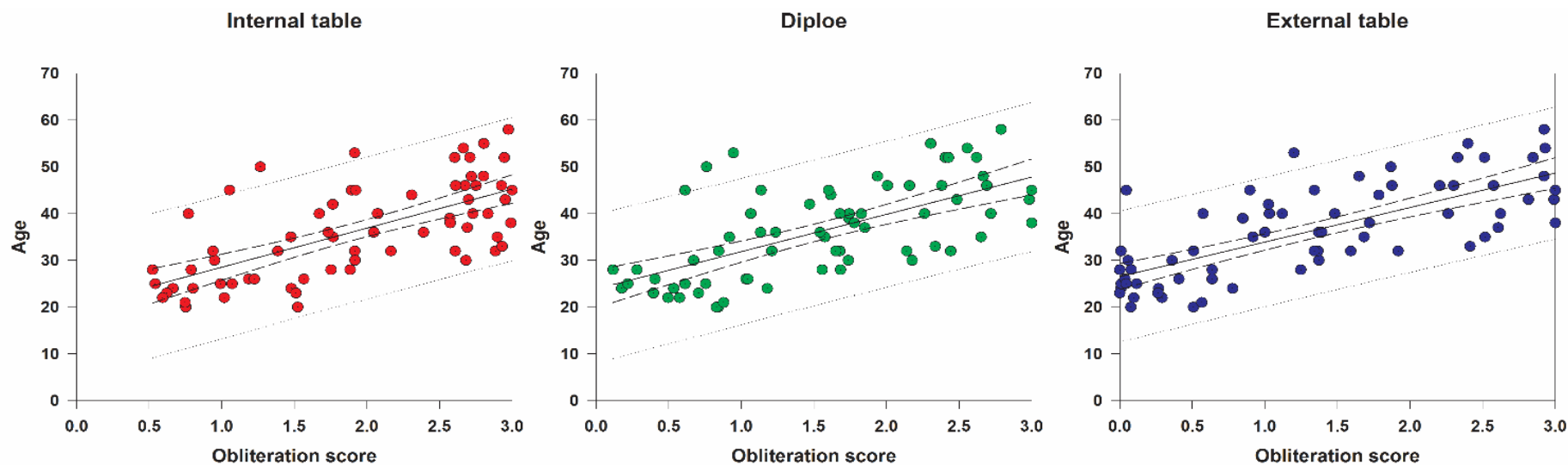
Според нашите резултати 40%-50% от промените и ремоделирането на сагиталния шев по време на съзряването му във всички сегменти и слоеве могат да бъдат обяснени с линейна зависимост с възрастта. Изчисленият 95 % интервал на прогнозиране, усреднен за трите костни слоя, е ±15 години (Табл. 1) и доколкото ни е известно, това е най-точната оценка на възрастта, получена досега. Въпреки това, тъй като етиологията на съзряването на шевовете остава неясна, препоръчително е при остеологични експертизи затварянето на сагиталния шев да се използва предпазливо и то само като допълнителен метод за определяне на възрастта при смъртта.



Фигура 3. Етапи от затварянето на сагиталния шев: а) изцяло отворен сагитален шев: IT-0, D-0, ET-0; б) начално затваряне: IT-1, D-0, ET-0; в) напреднало затваряне: IT-2, D-2, ET-0; д) напреднало затваряне: IT-3, D-2, ET-1; е) напреднало затваряне: IT-2, D-2, ET-2; ф) пълно сливане и ремоделиране на шева: IT-3, D-3, ET-3. Абревиатури: IT – Internal Table, D – Diploë, ET – External Table



Фигура 4. „Boxplot“ диаграми на степента на затваряне на сагиталния шев във всяка възрастова група: а) Internal Table; б) Diploë; в) External Table



Фигура 5. Линейна регресия на степента на затваряне на сагиталния шев спрямо възрастта: а) Internal Table (IT); б) Diploë (D); в) External Table (ET). Регресионната линия е представена като плътна линия, 95% confidence interval е означен с прекъснати линии с тирета, и 95% prediction interval е означен с прекъснати линии с точки

С цел да се разработят математически модели за определяне на възрастта при смъртта по степента на затваряне на сагиталния шев са приложени и алгоритми от областта на машинното обучение, които са в състояние да научат регресионни модели от данните за обучение. За целта са използвани данните от предходното изследване, но основната серия от 68 черепа е обединена с използваната като външна извадка серия от 20 черепа и върху обединените данни (общо 88 черепа) са приложени избрани алгоритми – линейна регресия (LR) и k -най-близък съсед (k -NN, в случая 15-NN). Степента на затварянето на сагиталния шев във всеки слой (IT, D, ET) и във всеки участък (S1, S2, S3, S4) от шева са означени като атрибути, чрез които са описани примерите (затварянето на сагиталният шев за всеки череп от извадката). Данните са организирани в 6 отделни обучителни набора от данни. Точността на моделите е оценена чрез LOOCV процедура, а предсказващата им способност чрез средната квадратична грешка (RMSE) и коефициента на детерминация (R^2), изчислени върху всеки от обучаващите набори от данни, както и върху генерираните чрез LOOCV „изключени“ (left out) примери, за да се оцени прогнозната ефективност на моделите върху „неизвестни“ примери.

Експериментите показват, че и двата приложени алгоритъма като цяло дават близки резултати за избраните набори от данни, т.е. научават модели с близка производителност (Табл. 2 и 3). LR показва по-добри резултати в 3 случая (набори от данни 1, 2 и 4), а 15-NN в останалите 3 случая (набори от данни 3, 5 и 6). Най-точните модели с почти еднаква точност на определяне са научени от третия набор от данни за обучение с помощта на алгоритъм 15-NN (RMSE = 6.2856; R^2 = 0.5650) и LR (RMSE = 6.2880; R^2 = 0.5646) (Фиг. 28). На второ място са моделите 15-NN (RMSE = 6.3310; R^2 = 0.5596) и LR (RMSE = 6.3649; R^2 = 0.5544), научени от 6-ия набор от данни за обучение.

В нашите експерименти, моделите с най-добра прогнозна ефективност за определяне на възрастта при смъртта, с най-ниска RMSE и най-висок R^2 , включват ET като атрибут. Според получените резултати възрастта на индивида може да бъде приблизително определена чрез оценяване на степента на затваряне на сагиталния шев по външната повърхност на черепа, както се извършва обикновено. Освен това участъците S2 и S3 на сагиталния шев са най-информативни. Може да се обобщи, че времето и редът на затваряне на шевове не следват определен модел, а са индивидуални, макар и в известна степен да са свързани с възрастта.

Таблица 2. Линејни регресионни модели за определење на возраста по затварањето на сагиталниот шев

Dataset (88 training examples)	Attributes Number (Names)	Linear regression model	R^2 (on Training set)	RMSE (on Training set)	R^2 (LOOCV)	RMSE (LOOCV)
Dataset 1	1 (IT)	Age = 8.4283 * IT + 19.8651	0.4896	6.8858	0.4674	6.9542
Dataset 2	1 (D)	Age = 8.286 * D + 23.1684	0.4776	6.8858	0.4540	7.0418
Dataset 3	1 (ET)	Age = 7.3246 * ET + 26.3761	0.5834	6.1492	0.5646	6.2880
Dataset 4	3 (IT, D, ET)	Age = 2.2448 * IT - 2.5058 * D + 7.5668 * ET + 25.6418	0.5886	6.1104	0.5448	6.4344
Dataset 5	12 (IT_S1 ÷ IT_S4; D_S1 ÷ D_S4; ET_S1 ÷ ET_S4)	Age = - 2.051 * IT_S1 + 3.5873 * D_S1 - 0.0049 * ET_S1 + 5.5306 * IT_S2 - 4.2231 * D_S2 + 2.5436 * ET_S2 - 4.089 * IT_S3 + 1.8176 * D_S3 + 4.6096 * ET_S3 - 1.8574 * IT_S4 - 0.9916 * D_S4 + 0.817 * ET_S4 + 30.0005	0.6419	5.7006	0.5089	6.7421
Dataset 6	3 (D_S1, ET_S2, ET_S3)	Age = 2.0706 * D_S1 + 2.2984 * ET_S2 + 3.1875 * ET_S3 + 24.8211	0.5937	6.0723	0.5544	6.3649

R^2 - coefficient of determination; RMSE - Root mean squared error.

Таблица 3. Модел на к-най-блиските соседи за определење на возраста по затварањето на сагиталниот шев

Dataset (88 training examples)	Attributes Number (Names)	K-Nearest neighbors model	R^2 (on Training set)	RMSE (on Training set)	R^2 (LOOCV)	RMSE (LOOCV)
Dataset 1	1 (IT)	Unweighted average of 15 nearest neighbours	0.5062	6.7133	0.4288	7.2204
Dataset 2	1 (D)	Unweighted average of 15 nearest neighbours	0.4825	6.8573	0.4111	7.3206
Dataset 3	1 (ET)	Unweighted average of 15 nearest neighbours	0.6262	5.8397	0.5650	6.2856
Dataset 4	3 (IT, D, ET)	Unweighted average of 15 nearest neighbours	0.5828	6.1545	0.5217	6.6055
Dataset 5	12 (IT_S1 ÷ IT_S4; D_S1 ÷ D_S4; ET_S1 ÷ ET_S4)	Unweighted average of 15 nearest neighbours	0.5697	6.2553	0.5105	6.6849
Dataset 6	3 (D_S1, ET_S2, ET_S3)	Unweighted average of 15 nearest neighbours	0.6192	5.8912	0.5596	6.3310

R^2 - coefficient of determination; RMSE - Root mean squared error.

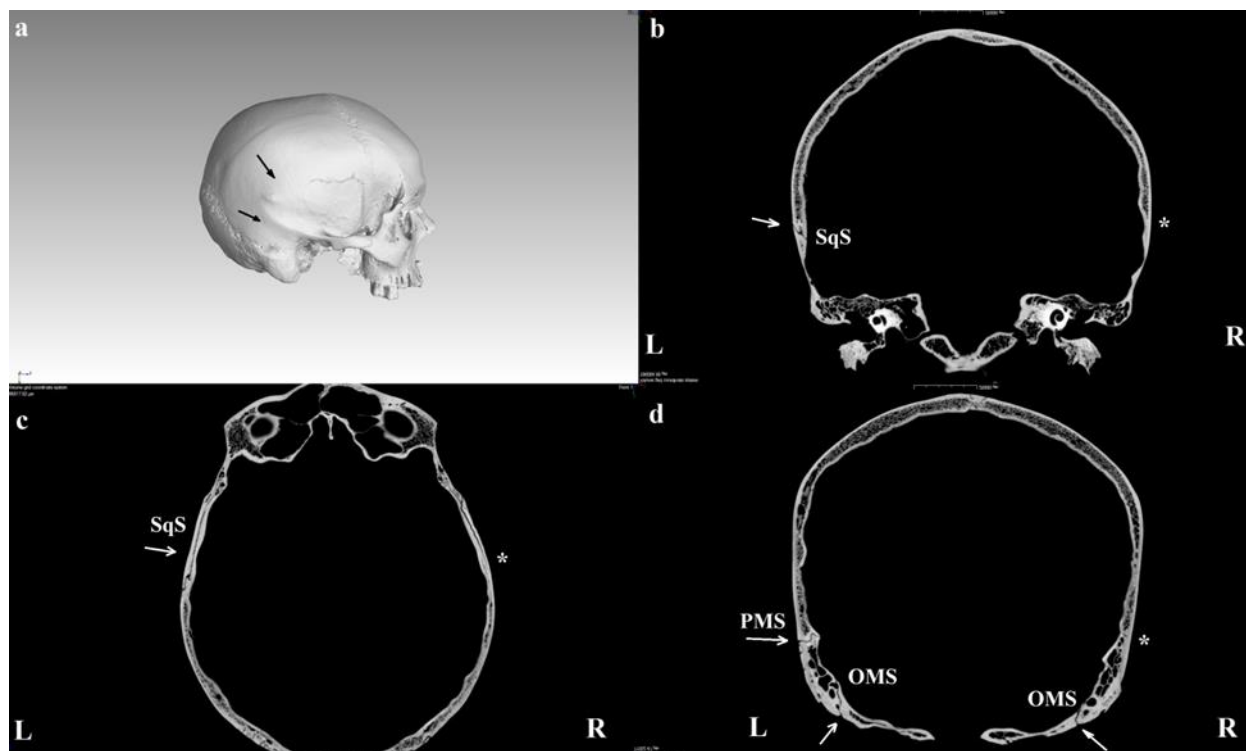
2.2. Люспест шев

Проучени са три случая на частично или изцяло затворен люспест шев (*sutura squamosa*) при черепи на израснали мъжки индивиди (Фиг. 6), което е рядко изследвано явление. Нормалното затваряне на люспестия шев настъпва много късно, ако се случи изобщо, поради което ранното му затваряне може да бъде подвеждащо при определяне на възрастта при смъртта при остеологични съдебно-медицински експертизи.

Черепите и степента на затваряне на шевовете са изследвани макро- и микроскопски с помощта на μ СТ система (Фиг. 7). Направено е и повърхностно наслагване на комплементарните половини на всеки един от черепите с цел да се визуализират двустранните различия в конфигурацията на черепа (Фиг. 8).



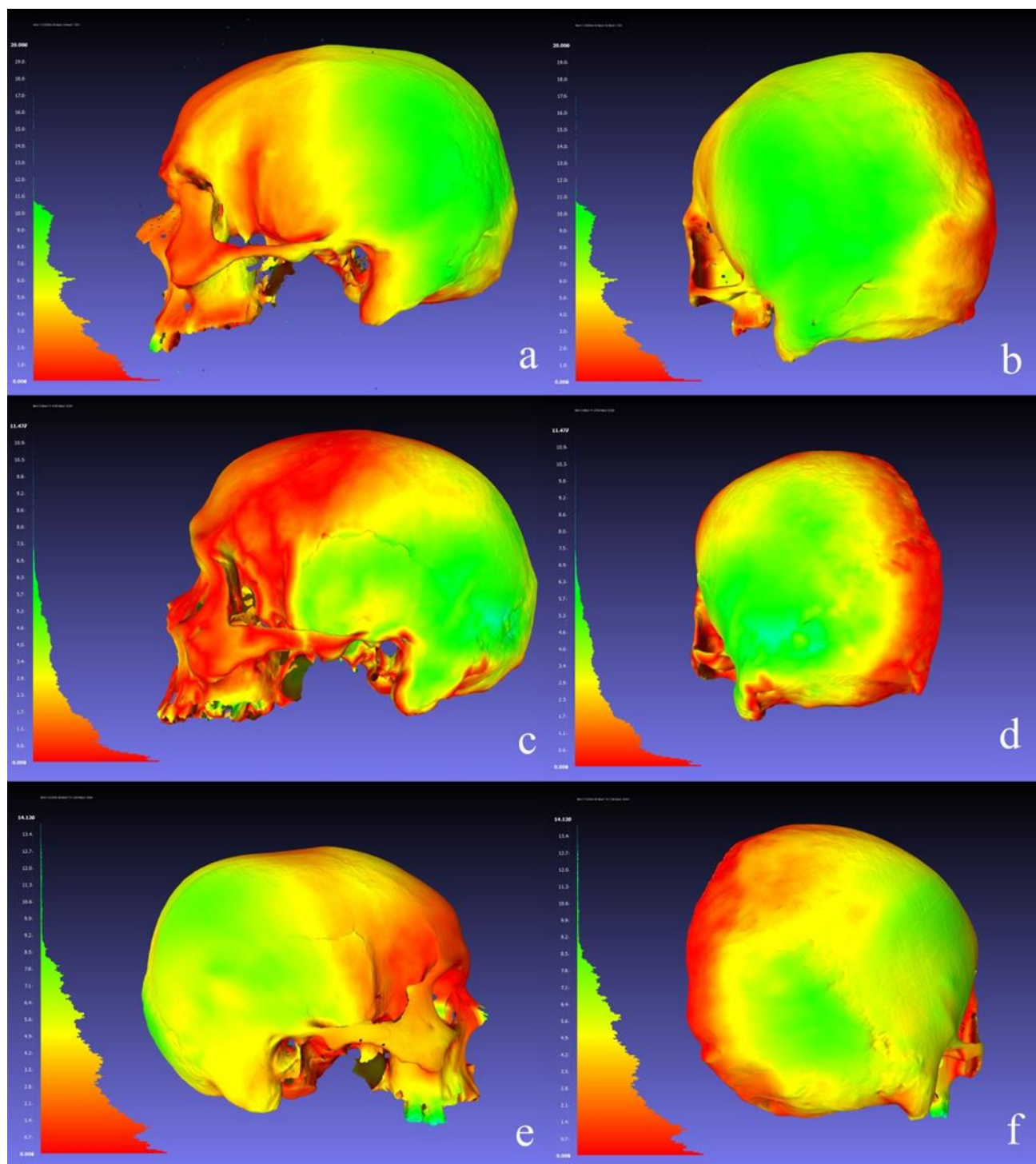
Фигура 6. Черепи със затворен люспест шев: а), b) двустранно затваряне на люспестия шев, пълно от лявата страна (a) и частично от дясната страна (b); c) частично затваряне на люспестия шев вляво; d) частично затваряне на люспестия шев вдясно



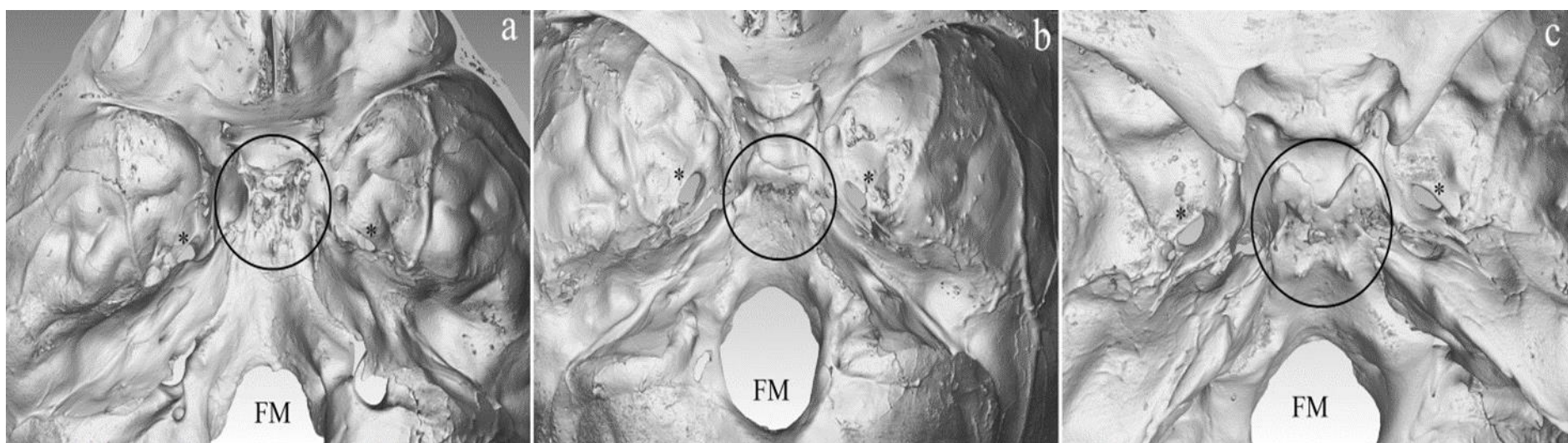
Фигура 7. Частично затваряне на люспестия шев в дясно: тримерна реконструкция и томограми в напречно сечение: а) страничен изглед вдясно; б) коронален срез на нивото на задната трета на люспестия шев; в) напречно сечение; д) коронален срез на нивото на parietomastoid и occipitomastoid sutures. Означения: черни стрелки - затворени шевове в тримерната реконструкция на черепа, бели стрелки - отворени шевове на томограмите, звездички - затворени шевове на томограмите, SqS - squamous suture, PMS - parietomastoid suture, OMS - occipitomastoid suture, L - left side, R - right side

Установи се, че люспестият шев е затворен при 1.42 % (3 от 211 черепа) от извадката. При един от черепите облитерацията е двустранна, а при другите два случая – едностранна, при единия в дясно, а при другия – в ляво. В един от случаите люспестият шев е напълно затворен, а при останалите два случая е затворен частично.

Установихме, че затварянето на люспестия шева не е свързано със силно изразени деформации във формата на черепния свод и базата на черепа. Цветните карти на насложените комплементарни половини за всеки череп показват, че основните различия между черепните повърхности се отнасят изцяло до теменната и тилната части на свода на черепа (Фиг. 8). Облитерацията на *sutura squamosa* и *sutura parietomastoidea* изглеждат координирани помежду си, но не и с тази на основните черепни шевове. И при трите черепа се наблюдава ерозия на турското седло (Фиг. 9), което често е показател за повишено вътречерепно налягане.



Фигура 8. Цветни карти на наслагването на комплементарните черепни половини.
а, в случай 1; с, d случай 2; е, f случай 3



Фигура 9. Тримерна реконструкция и визуализация на вътрешната повърхност на черепната основа. а) напреднала ерозия на основата и горната част на *dorsum sellae* при случай 1; б) ерозия на основата на *dorsum sellae* при случай 2; в) силна ерозия на върха и основата на *dorsum sellae* при случай 3. Съкращения и означения: FM – *foramen magnum*; * - *foramen ovale*; област, оградена с кръг – *dorsum sellae*

3. Затваряне на черепните шевове при метопизъм

3.1. Челно-носов и междуносов шев

Степента на затваряне на челно-носовия и междуносовия шевове е изследвана макроскопски при метопични ($n = 69$) и контролни ($n = 90$) черепни серии. В извадката от общо 159 черепа на израснали мъже, не е установен случай на затворен челно-носов шев. Общият брой случаи на затворен междуносов шев в цялата извадка е 13 (8.2%) черепа. В 8 (5.0%) случая затварянето е наблюдавано в горната част; при 1 (0.6%) череп то е в долната част и при 4 (2.55%) случая шевът е изцяло затворен. Може да се допусне, че тези резултати показват тенденция затварянето на междуносовия шев да започва предимно в горната част на шева. Затварянето на шева се наблюдава по-често при контролната серия (11.1%; 10 от общо 90 черепа) в сравнение с метопичната (4.3%; 3 от общо 69 черепа), като разликата не достига статистическа значимост ($k = 1$; $\chi^2 = 2.380$; $p = 0.123$).

3.2. Сагитален шев

Изследването е извършено върху метопична ($n = 34$) и контролна ($n = 88$) черепни серии на израснали мъжки индивиди с известна възраст при смъртта, разделени във възрастови групи (< 35 г.; ≥ 35 г.). Възрастта при смъртта на индивидите в цялата извадка варира между 19-59 години, като средната възраст е 36 години. Черепите са сканирани с μ СТ система по утвърден от екипа протокол, а степента на затваряне на сагиталния шев е оценена върху тримерните изображения чрез разработена оригинална скала (подраздел 2.1). Всяка серия е описана чрез признаци (атрибути), организирани в 4 различни набора от данни за обучение, върху които е приложен статистически базиран алгоритъм за машинно обучение, който научава регресионни модели, представени като линейно отношение между една зависима (възрастта при смъртта на индивида) и една и няколко независими променливи (степента на затваряне на сагиталния шев в различните костни слоеве (IT, D, ET) и участъци от шева (S1, S2, S3, S4)). Точността на регресионните модели е оценена посредством LOOCV процедура, а предсказващата възможност на научените модели чрез RMSE и R^2 .

Сравнението между двете серии показва, че степента на затваряне на сагиталния шев се различава статистически значимо във всеки от костните слоеве и участъци от шева. Сравнението показва още, че в първата възрастова група от индивиди под 35 г., степента

на затваряне на сагиталния шев се различава значимо само във вътрешния слой, докато във втората възрастова група от индивиди над 35 г., степента на затваряне на сагиталния шев се различава значимо във всички костни слоеве. Всички установени значими различия между двете серии, демонстрират по-ниски стойности в степента на затваряне на сагиталния шев при метопичната серия в сравнение с контролата.

Използваните подходи позволяват за първи път да бъдат разработени модели за определяне на възрастта при смъртта по затварянето на сагиталния шев при метопични черепи и да бъдат сравнени с подобни модели, разработени за контролни черепи. Въпреки че е далеч от представата за „точност“, най-добрият модел за определяне на възрастта при смъртта за контролната серия е този, научен върху контролната серия, където примерите за описани чрез усреднената стойност за затварянето на външния слой (ET) по цялата дължина на сагиталния шев (набор от данни 4, RMSE = 6.288). Най-точният модел за определяне на възрастта при смъртта за метопичната серия е базиран на контролната серия, където примерите са описани чрез пълния набор от 12 атрибута (набор от данни 1, RMSE = 10.6899) (Табл. 4). Когато за обучение е използвана метопичната серия, създадените модели са по-ненадеждни за определяне на възрастта при смъртта и при двете серии, в сравнение с моделите, разработени върху контролата, като обучителна извадка. Моделът, научен върху набор от данни 4, показва най-ниска RMSE за трениращата и тестовата серии (Табл. 5). Моделите, научени върху комбинираната серия, описана чрез различен набор от атрибути, са по-надеждни за предсказване на възрастта при смъртта за метопичните черепи в сравнение с контролните. Най-надеждните модели са тези, описващи примерите чрез степента на затваряне на сагиталния шев във външния костен слой (ET) по цялата дължина на шева (набор от данни 4; 4*; Табл. 6). Предсказващият потенциал на тези модели за метопичната и контролната серии е близък до най-добрите резултати, получени от моделите, разработени поотделно за всяка серия (Табл. 4 и 5).

Като се вземат предвид резултатите от това оригинално изследване, отговорът на въпроса дали запазването на метопичния шев повлиява останалите шевове на черепния свод изглежда положителен. Това основателно води до наблюдаваното влошаване на връзката между затварянето на сагиталния шев и възрастта при метопичната серия в сравнение с контролата.

Таблица 4. Линейни регресионни модели за определяне на възрастта при смъртта (тренирани върху 88 примера с MS = 0, тествани върху 34 примера с MS=1)

Dataset	Attributes Number (Abbr)	Linear regression model	R^2 (LOOCV)	RMSE (LOOCV)	R^2 (on Test set)	RMSE (on Test set)
Dataset 1 88 examples MS = 0	12	Age = -2.051 * IT_S1 + 3.5874 * D_S1 + (-0.0049) * ET_S1 + 5.5306 * IT_S2 + (-4.2231) * D_S2 + 2.5436 * ET_S2 + (-4.089) * IT_S3 + 1.8176 * D_S3 + 4.6096 * ET_S3 + (-1.8574) * IT_S4 + (-0.9916) * D_S4 + 0.817 * ET_S4 + 30.0005	0.5089	6.7421	0.1198	10.6899
Dataset 2 88 examples MS = 0	4 (ET_S1 ÷ 4)	Age = 2.2898 * ET_S1 + 1.7631 * ET_S2 + 3.8978 * ET_S3 + (-0.6207) * ET_S4 + 25.6161	0.5417	6.457	0.1173	11.1987
Dataset 3 Average 88 examples MS = 0	3 (IT, D, ET)	Age = 2.2448 * IT + (-2.5058) * D + 7.5668 * ET + 25.6418	0.5448	6.4344	0.1122	11.1001
Dataset 4 Average 88 examples MS = 0	1 (ET)	Age = 7.3246 * ET + 26.3761	0.5646	6.288	0.1059	11.0425

Таблица 5. Линейни регресионни модели за определяне на възрастта при смъртта (тренирани върху 34 примера с MS = 1; тествани върху 88 примера с MS = 0)

Dataset	Attributes Number (Abbr)	Linear regression model	R^2 (LOOCV)	RMSE (LOOCV)	R^2 (on Test set)	RMSE (on Test set)
Dataset 1 34 examples MS = 1	12	Age = 1.0409 * IT_S1 + 6.7904 * D_S1 + (-3.8577) * ET_S1 + 7.5907 * IT_S2 + (-13.5631) * D_S2 + 2.9139 * ET_S2 + (-13.4568) * IT_S3 + 8.8732 * D_S3 + 2.5377 * ET_S3 + 7.5522 * IT_S4 + 1.4929 * D_S4 + (-2.4382) * ET_S4 + 28.0917	0.0238	14.7645	0.2634	8.9102
Dataset 2 34 examples MS = 1	4 (ET_S1 ÷ 4)	Age = 2.7661 * ET_S1 + (-7.0218) * ET_S2 + 8.6277 * ET_S3 + (-0.2899) * ET_S4 + 30.5741	0.0024	11.6882	0.3258	8.3648
Dataset 3 Average 34 examples MS = 1	3 (IT, D, ET)	Age = 5.0848 * IT + (-7.2006) * D + 6.4435 * ET + 30.7298	0	11.832	0.5452	6.9229
Dataset 4 Average 34 examples MS = 1	1 (ET)	Age = 4.7135 * ET + 30.8998	0.0296	11.0395	0.5834	6.7484

Таблица 6. Линейни регресионни модели за определяне на възрастта при смъртта (тренирани върху 122 примера, MS = [0,1] чрез LOOCV. RMSE for MS=1 and MS = 0)

Dataset	Attributes Number (Abbr)	Linear regression model	R^2 (LOOCV)	RMSE (LOOCV)	RMSE (LOOCV MS = 0	RMSE (LOOCV MS = 1
Dataset 1	12	Age = -2.2048 * IT_S1 + 3.8841 * D_S1 + (-0.373) * ET_S_1 + 6.9351 * IT_S2 + (-6.6833) * D_S2 + 2.8769 * ET_S2 + (-6.4608) * IT_S3 + 2.3861 * D_S3 + 4.0311 * ET_S3 + 0.4937 * IT_S4 + (-0.0853) * D_S4 + 0.552 * ET_S4 + 30.5735	0.3481	8.1724	6.6805	11.1420
Dataset 2	4 (ET_S1 ÷ 4)	Age = 1.6663 * ET_S1 + 1.6311 * ET_S2 + 3.09 * ET_S3 + (-0.0392) * ET_S4 + 27.8308	0.3640	8.015	6.40212	11.0760
Dataset 3	3 (IT, D, ET)	Age = 1.2433 * IT + (-3.0933) * D + 7.8851 * ET + 28.7329	0.3711	7.9684	6.4520	10.9588
Dataset 4	1 (ET)	Age = 6.4623 * ET + 28.1709	0.3866	7.8645	6.3447	10.8509
Dataset 1*	12 + MS	Age = -1.55 * IT_S1 + 3.4186 * D_S1 + 0.3127 * ET_S1 + 6.6169 * IT_S2 + (-6.7177) * D_S2 + 2.1874 * ET_S2 + (-6.171) * IT_S3 + 2.236 * D_S3 + 4.4689 * ET_S3 + 0.995 * IT_S4 + 0.0509 * D_S4 + 0.1396 * ET_S4 + 2.6522 * MS + 28.3526	0.3432	8.2205	6.7276	11.19530
Dataset 2*	4 (ET_S1 ÷ 4) + MS	Age = 2.3692 * ET_S1 + 0.6678 * ET_S2 + 4.0983 * ET_S3 + (-0.2921) * ET_S4 + 3.3902 * MS + 26.102	0.3705	7.9782	6,4493	10.9883
Dataset 3*	3 (IT, D, ET) + MS	Age = 2.3688 * IT + (-3.5099) * D + 7.741 * ET + 2.8241 * MS + 26.7519	0.3695	7.9846	6.4021	11.0760
Dataset 4*	1 (ET) + MS	Age = 6.8385 * ET + 2.5362 * MS + 27.0322	0.3850	7.8778	6.2938	10.9617

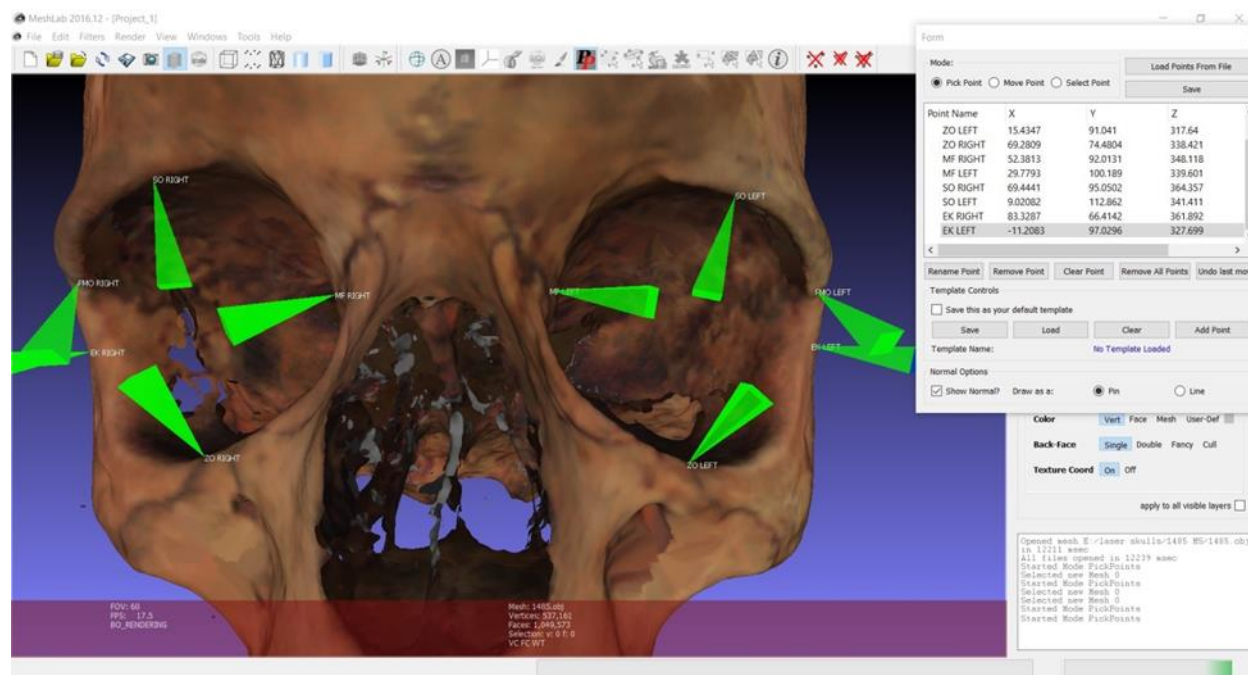
Закономерно, линейните регресионни модели, научени върху метопичната серия, не са особено надеждни за определяне на възрастта при смъртта на индивида. Интересно е да се отбележи, че тези модели са по-прецизни в определянето на възрастта при смъртта на контролните черепи в сравнение с метопичните.

Нашите оригинални данни позволяват да се обобщи, че грешката при определянето на възрастта при смъртта при метопични черепи е почти два пъти по-голяма от тази при контролата. Имайки предвид, че степента на затваряне на сагиталния шев е слабо свързана с възрастта и трябва да бъде използвана много предпазливо като индикатор за възраст при неметопични черепи, би могло да се заключи, че тя е практически неизползваема при метопични черепи.

4. Конфигурация на черепа при метопизъм

4.1. Орбитална област

Орбиталната област е сравнена при 278 полигонални модела на мъжки черепи от костницата към НВИМ-София, разпределени в две серии: метопична ($n = 71$) и контролна ($n = 207$). Моделите са генерирани чрез лазерно сканиране, а дигиталната морфометрия е извършена чрез снемането на тримерните координати на 5 двустранни точки (Фиг. 10).



Фигура 10. Обозначаване на точките върху 3D модел в MeshLab. Съкращения: FMO – frontomolareorbitale; EK – ektoconchion; MF – maxillofrontale; SO – supraorbitale; ZO – zygoorbitale

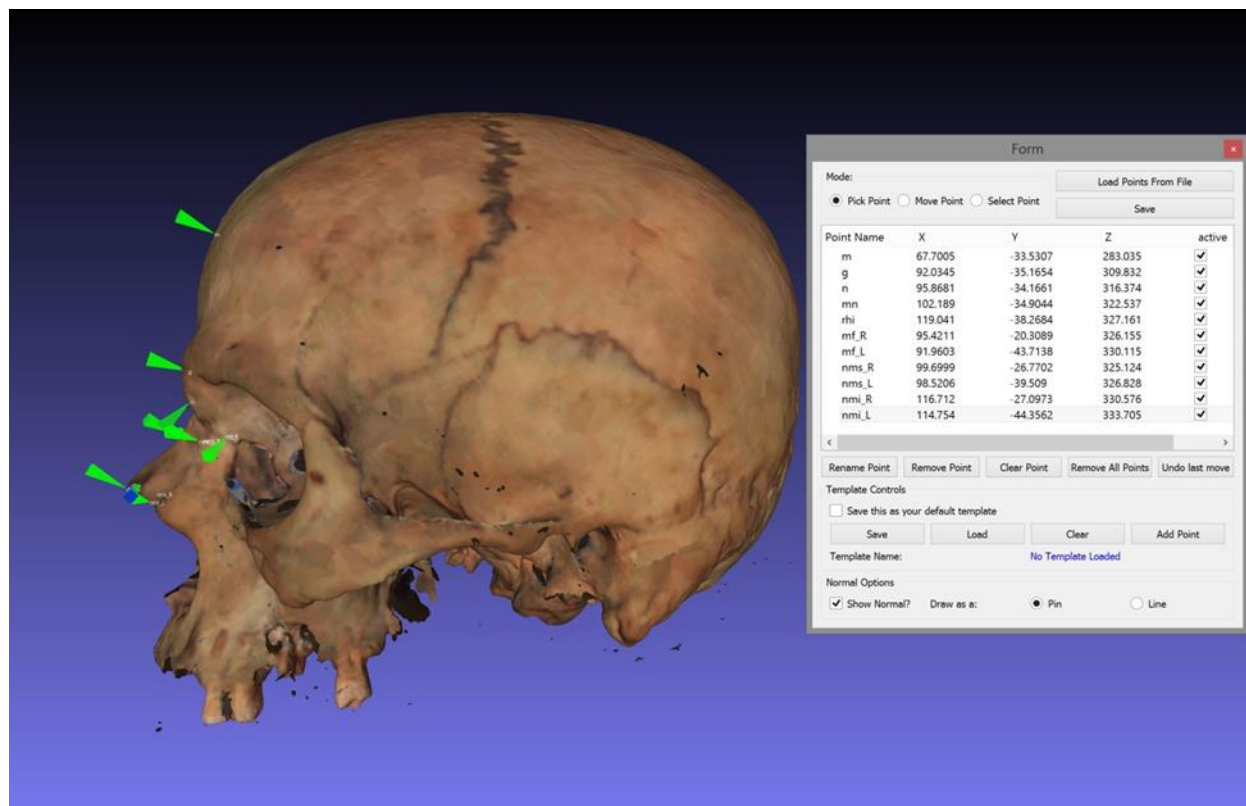
Получените резултатите показват, че орбиталната област се различава значително при метопичната и контролната серии. Установи се, че достоверно по-голямата биорбитална широчина при метопичната серия се дължи на значимо по-голямото междуочнично разстояние, което от своя страна е предпоставка за по-широка носова основа. Същевременно площта и размерите на входа на очницата не се различават значимо между сериите.

4.2. Носово-челна област

Носово-челната област е сравнена при общо 159 мъжки черепи от костницата към НВИМ-София, разпределени в метопична ($n = 69$) и контролна ($n = 90$) серии. Изследването е извършено върху полигонални модели, генерирани чрез лазерно сканиране, върху които са снети тримерните координати на 11 анатомични точки (Фиг. 11). Между точките са изчислени 43 линейни размери и са конструирани 25 триъгълника. Триъгълниците са обединени в две групи: мидсагитални (10 на брой), построени изцяло между точките в мидсагиталната равнина, където разстоянието между горната и долната точка е означено като основа, а точката между тях, като връх; хоризонтални триъгълници (15 на брой), които са построени така, че за основа е използван трансверзален размер, а като връх – точка в мидсагиталната равнина. Всички ъгли в триъгълниците са пресметнати като са използвани дължините на страните и косинусовата теорема. Площта на триъгълниците е изчислена по Хероновата формула. Изчислена е и височината от върха до основата на всеки триъгълник.

От общо 43-те линейни размера, 13 показват значими различия между двете серии. Тъй като всички линейни размери са използвани за построяването на триъгълници, всеки размер, който е статистически значимо различен между двете серии, съответства на значимо различна страна в производния триъгълник. Така, 24 от общо 25-те построени триъгълници показват значими различия по отношение на техните страни, ъгли, площ или височина. Изключение прави мидсагиталният триъгълник *metopion-midnasale-rhinion*, който не показва никакви значими различия между двете серии. С изключение на този триъгълник, 3 други триъгълника не показват значими различия по отношение на дължините на страните си; 5 триъгълника не се различават значимо по отношение на ъглите, площта или височината, но показват значими различия в дължините на страните

си. Трябва да се отбележи, че в триъгълника *metopion-glabella-nasion* нито една от страните не показва значими различия между двете серии, същевременно обаче, това е единственият триъгълник, в който всички ъгли, височината и площта се различават значимо между метопичната и контролната серии.



Фигура 11. Ляв страничен изглед на примерен модел на метопичен череп с маркирани точки и техните координати в MeshLab

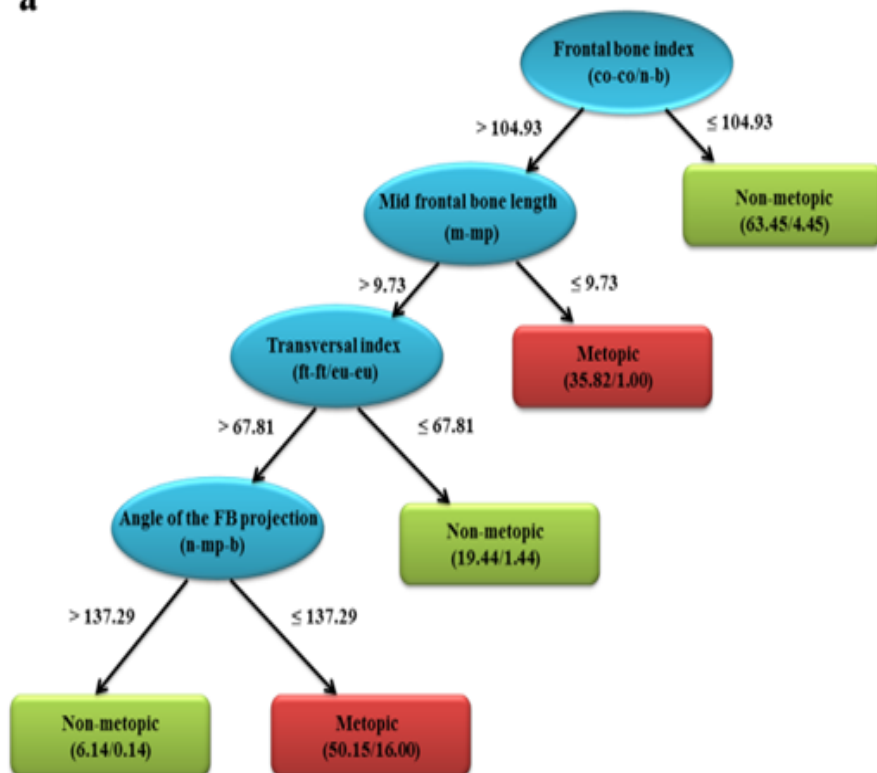
Направената метрична характеристика показва, че основните различия в морфологията на носово-челната област не са директно свързани с височината на челото, а се отнасят предимно за носовите кости, които са значително по-широки, плоски и къси при метопичната серия в сравнение с контролата. Ъгловата характеристика показва, че в сравнение с контролата, метопичните черепи се характеризират с по-плоска *glabella*, по-повърхностно разположена точка *nasion*, плосък носов мост и по-слабо изпъкваща точка *rhinion*.

4.3. Извличане на знания от данни за особености в мозъковия дял

Изследвана е серия от 175 (75 метопични; 100 контролни) полигонални тримерни модели на черепи, генерирани чрез лазерно сканиране и 150 (50 метопични; 100 контролни) обемни тримерни изображения на черепи, генерирани чрез индустриална компютърна томография. Черепите принадлежат на израснали мъжки индивиди от костницата към НВИМ-София. Изследвани са общо 92 атрибута (признака), 47 количествени и 45 качествени, с изключение на класифициращия признак (class attribute), който в случая е наличието на метопичен шев. Атрибутите са групирани в набори от данни, които са използвани за обучение на алгоритми и научаване на модели за класифициране на даден череп като метопичен или не, т.е. извличане на най-отличителните белези между метопичните и контролни черепи. Най-надеждният модел е получен чрез прилагане на алгоритъма J48 върху набор от данни, описани чрез поднабор от 18 атрибута (10 качествени и 8 количествени). Атрибутите са предварително селектирани чрез комбинация от CfsSubsetEval метод за оценка на атрибутите с генетично-базиран метод за търсене на атрибути. Полученото разклонено J48 дърво се състои от 9 възела – 4 възела на решенията и 5 изхода/листа (Фиг. 12a); първата цифра в скобите представлява средния брой тренировъчни примера, минали през съответното листо на дървото, докато втората цифра показва средния брой тренировъчни примера, класифицирани неправилно от листото. Петте класификационни правила, отговарящи на дървото, са представени на Фигура 12b. Те използват само 4 (количествени) атрибута и са способни да предскажат дали черепът, който тестваме, е метопичен или не с класификационна точност от 82.86%. Цифрите в скобите отговарят на средната точност на правилото (в %), изчислена върху трениращите примери, удовлетворяващи правилото.

Установените значими различия засягат главно челната кост, която е значително по-къса, по-широка и по-изпъкнала при метопичните черепи. Освен това, в метопичната серия напречният индекс, който изразява отношението на широчината на челната кост спрямо широчината на черепа ($ft-ft/eu-eu$), е значително по-голям, докато индексът на тилната широчина спрямо черепната широчина ($ast-ast/eu-eu$) е значително по-малък в сравнение с контролата. Най-точният модел обединява общо пет правила за класификация, изцяло базирани на количествени характеристики на челната кост (Фиг. 12).

a



b

1. IF the frontal bone index (co-co/n-b) ≤ 104.93 , THEN the skull is non-metopic (92.99%);
2. IF the frontal bone index (co-co/n-b) > 104.93 AND the mid frontal bone length (m-mp) > 9.73 AND the transversal index (ft-ft/eu-eu) ≤ 67.81 , THEN the skull is non-metopic (97.21%);
3. IF the frontal bone index (co-co/n-b) > 104.93 AND the mid frontal bone length (m-mp) > 9.73 AND the transversal index (ft-ft/eu-eu) > 67.81 AND the angle of the frontal bone projection (n-mp-b) > 137.29 , THEN the skull is non-metopic (92.59%);
4. IF the frontal bone index (co-co/n-b) > 104.93 AND the mid frontal bone length (m-mp) ≤ 9.73 , THEN the skull is metopic (68.10%);
5. IF the frontal bone index (co-co/n-b) > 104.93 AND the mid frontal bone length (m-mp) > 9.73 AND the transversal index (ft-ft/eu-eu) > 67.81 AND the angle of the frontal bone projection (n-mp-b) ≤ 137.29 , THEN the skull is metopic (97.72%).

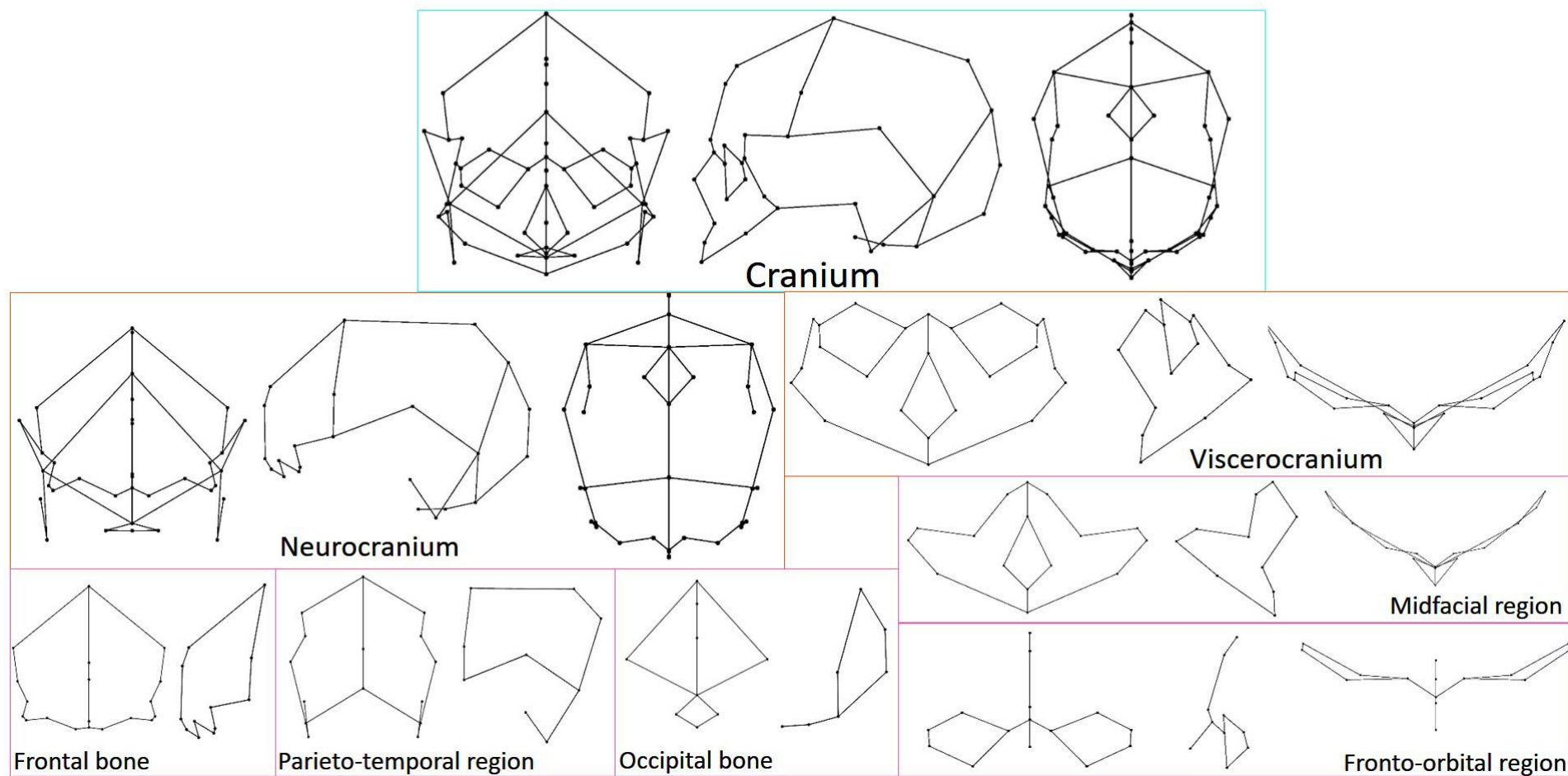
Фигура 12. Дърво на решенията и правила за класификация: а) най-доброто дърво на решенията J48, използващо четири атрибута; б) наборът от правила, съответстващ на това дърво

4.4. Геометрично морфометрично изследване на черепа

Различията във формата и големината на черепа са изследвани върху извадка от общо 247 (метопични, $n = 63$ и контролни $n = 184$) черепа чрез подходи от областта на геометричната морфометрия. За целта върху тримерни полигонални модели на черепите са снети набор от анатомични точки, групирани в осем конфигурации, които описват както целия череп, така и отделните му дялове: (1) череп (*cranium*); (2) мозъков дял (*neurocranium*); (3) предна част (*frontal bone*); (4) средна част (*parietotemporal region*); (5) задна част (*occipital bone*); (6) лицев дял (*viscerocranium*); (7) челно-носово-орбитална област (*frontonasoorbital region*); (8) среднолицева област (*midfacial region*) (Фиг. 13). Изчислената грешка в прецизността на дигитализацията на точките е относително малка и има пренебрежим ефект върху крайните резултати от приложените анализи.

За всяка конфигурация от точки е изчислен размерът на центроида (CS), като нормалността на разпределението на стойностите за CS за всяка серия е оценена чрез тест за нормалност на Shapiro-Wilks. Междугруповите сравнения за стойностите на CS за всяка конфигурация от точки са направени с независим *t*-test. Получените резултати показват, че общият размер на черепа в контролната серия е по-голям в сравнение с метопичната, но това различие не е статистически значимо и същото е валидно за мозъковия дял като цяло. Въпреки това, когато се разгледат поотделно предната (челната кост), средната (теменно-слепоочната) и задната (тилната кост) части на мозъковия дял, се установяват значими различия между сериите, като челната кост при метопичната серия е значимо по-голяма, докато теменно-слепоочната област и тилната кост са значимо по-малки в сравнение с тези при контролата. Това показва, че метопизмът не е свързан със значима разлика в размера на мозъковия дял като цяло, а по-скоро се свързва със слабо изразено преразпределяне на черепното пространство в полза на челната част, но за сметка на средните и задните области. Лицевият дял, както и челно-носово-орбиталната и среднолицевата конфигурации са близки по размер и при двете серии, което показва, че метопизмът не е свързан със значими различия в лицевия дял.

Използвани са анализи от геометричната морфометрия, като е приложено обобщено Прокрустово наслагване (GPS). За да се премахне ефекта на алومتрия е използвана многовариантна регресия на Прокрустовите координати (формата, зависимите

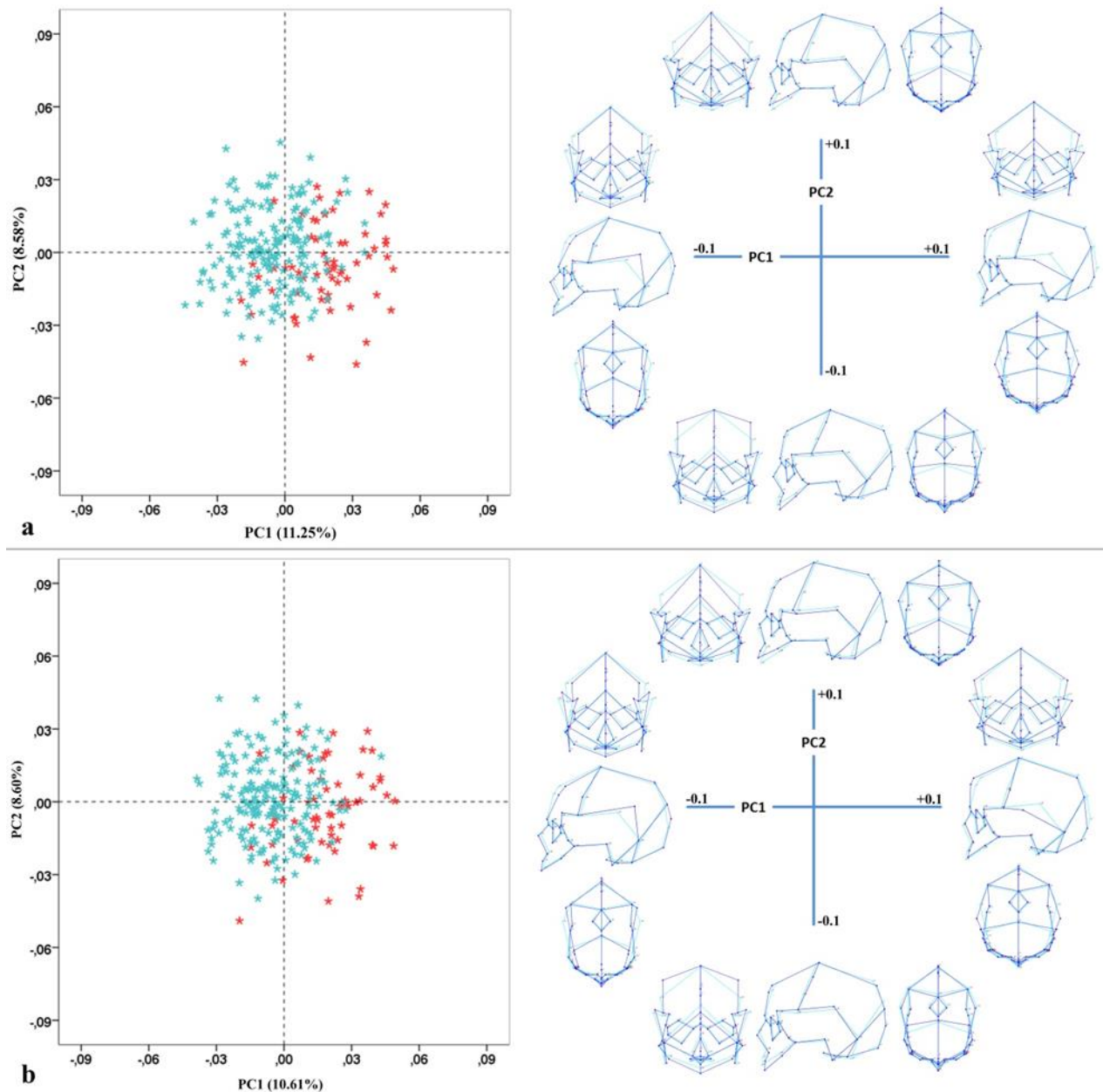


Фигура 13. Конфигурации от точки, описващи черепа и неговите дялове

променливи) върху логаритмично трансформирания размер на центроида (CS, размера, който е независима променлива) и са изчислени регресионни остатъци за всяка от конфигурациите от точки. Променливите за формата от двете серии са сравнени чрез one-way PERMANOVA (пермутации: 9999 повторения; Евклидова мярка за разстояние). Вариацията във формата на черепа при метопичната и неметопичната серии е изследвана посредством анализ на главните компоненти (PCA), приложен отделно към Прокрустовите координати и към регресионните остатъци (алометрично-коригирани променливи за формата) за всяка от конфигурациите от точки (Фиг. 14). Сравнението на формата показва, че всички конфигурации от точки се различават статистически значимо между двете серии, като теменно-слепоочната област е най-отличаващата се по форма област между двете серии. Най-слабо различаващата се област на черепа е тилната, където вариацията във формата е значително повлияна от размера, тъй като премахването на ефекта на алометрия елиминира разликите във формата между сериите. Формата при всички конфигурации се различава значително, но PCA не разграничава ясно двете серии по извлечените основни компоненти. Обобщено, метопичните черепи са относително по-широки в медиолатерално и скъсени в предно-задно направление, като максималният напречен диаметър е изместен по-близо до средната коронална равнина. Съответно цялостната форма на мозъковия дял при метопизъм придобива глобуларни очертания.

Към стойностите на CS, извлечени от съответните конфигурации от точки, е приложен едновариантен дискриминантен анализ. Точността на класификация е анализирана само в конфигурациите, където се установяват значими междугрупови различия по отношение на CS. За да се оцени способността на формата на различните конфигурации да разделят метопичните и неметопичните черепи, е приложен многовариантен дискриминантен анализ, а като входни данни са използвани компонентите, извлечени от PCA на регресионните остатъци, които кумулативно представляват 90% от сумарната вариация във всяка отделна конфигурация. За оценка на точността на класифициране е използвана LOOCV процедура. Сравнението между дискриминантния потенциал на формата и размера на челната кост и теменно-слепоочната област показва, че формата на тези конфигурации има по-висока дискриминантна способност от размера. Конфигурацията на тилната кост показва много ниска способност за класифициране на черепа като метопичен или неметопичен по форма и размер.

Мозъковият дял на черепа има най-висока обща дискриминантна способност и класифицира контролните черепа по-точно в сравнение с метопичните. С изключение на тилната кост, формата на мозъковия дял и неговите части класифицират черепите от двете серии с по-висока точност в сравнение с формата на лицевия дял и неговите области.



Фигура 14. Диаграма на вариацията във формата на черепа по PC1 спрямо PC2 и съответните векторни графики, показващи конфигурациите на формата при PC1 и PC2 екстремуми след PCA: а) върху Прокрустовите координати; б) върху регресионните остатъци. Легенда: сини звездички – контролни черепа; червени звездички – метопични черепа; светлосини очертания – средна форма; тъмносини очертания – екстремни конфигурации на формата по осите на главните компоненти

4.5. Ъгъл на черепната основа

Направено е сравнително морфометрично изследване на ъгъла на черепната основа при общо 246 черепа, 93 метопични и 153 контролни, на израснали мъжки индивиди от костницата към НВИМ-София. Изследването е извършено върху странични дигитални радиографии, заснети с помощта на μ СТ система. Точките *nasion* и *basion* са маркирани предварително с радиоплътни медни маркери. Поради вътречерепната локация, точката *sella* е обозначена директно върху радиографиите. Ъгълът на черепната основа е построен между линията, свързваща точката *nasion* (*n*) с центъра на хипофизната ямка (*s*) и линията, свързваща предния ръб на големия тилен отвор (*foramen magnum*) (*ba*) с центъра на хипофизната ямка (Фиг. 15). След построяването, ъгълът на черепната основа е измерен директно върху радиографиите с помощта на софтуера ImageJ. Граничните стойности за ъгъла на черепната основа са използвани според Koenigsberg et al. (2005):

1. Кифоза на черепната основа (*kyphosis*), екстремно свиване, ъгъл $< 125^\circ$
2. Норма, ъгъл на черепната основа между 125° - 143°
3. Платибазия (*platybasia*), абнормално отваряне/заравняване, ъгъл $> 143^\circ$

Стойностите на ъгъла на черепната основа не показват значими различия между двете изследвани серии (метопична серия: $\min 117^\circ$, $\max 144^\circ$, средно $131.67^\circ \pm 5.43^\circ$; контрола: $\min 119^\circ$, $\max 144^\circ$, средно $131.68^\circ \pm 5.00^\circ$). Сравнението на ъгъла на черепната основа по категории също не демонстрира значими различия между сериите ($\chi^2 = 1.69$, $k=2$). Базиларна кифоза се отчита с приблизително еднаква честота и при двете серии: 7.53% (7 от 93 черепа) в метопичната серия и 7.19% (11 от 153 черепа) в контролата. Сред метопичната серия се установи единичен случай на *platybasia* (1.08%). Получените резултати демонстрират, че значителното различие в конфигурацията на черепния свод при метопичните черепа не е свързано със значими промени в профилировката на черепната основа, въпреки тясната взаимовръзка в развитието на двете части на мозъковия дял.



Фигура 15. Ъгъл на основата на черепа: а) базилярна кифоза (117°); б) платибазия (144°)

5. Метопизъм и пневматизация на челния синус

5.1. Пневматизация във вертикалната част на челната кост

Пневматизацията във вертикалната част на челната кост е изследвана при общо 230 черепа, 93 метопични и 137 контролни, от костницата към НВИМ-София. За да се оцени пневматизацията във вертикалната част на челната кост, която потенциално може да бъде повлияна от запазването на функциониращ метопичен шев, е използвана дигитална радиография. За най-добра визуализация на челния синус, черепите са ориентирани в задно-предна позиция, наклонени в интервал от $15-20^\circ$ спрямо Франкфуртската хоризонтална равнина (FH), образувана между двете точки *porion* и лявата точка *orbitale*, т. нар. проекция на Колдуел (Caldwell's view). Развитието на челния синус е оценено двустранно като: аплазия, хипоплазия, нормален размер, хиперплазия (Фиг. 16).

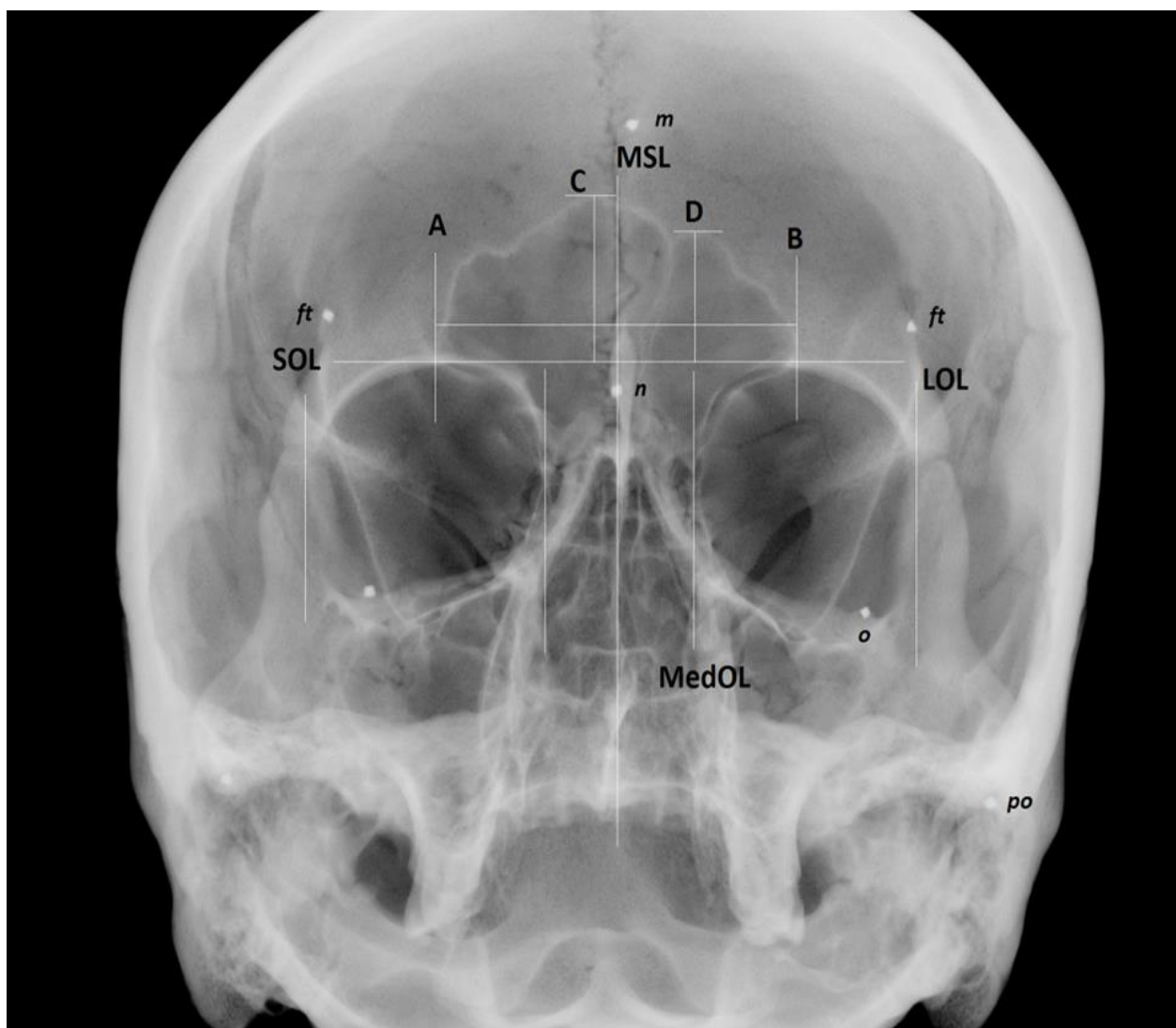


Фигура 16. Развитие на челния синус: а) Двустранна аплазия на челния синус при метопичен череп; б) Дясностранична аплазия на челния синус при метопичен череп; в) Хиперплазия на челния синус при череп от контролната серия

Аплазия на челния синус сред контролната серия се установи при 17 (12.41%) от общо 137 черепа, като при 5 (3.65%) черепа тя е двустранна и при 12 (8.76%) черепа еностранна. Еностранната аплазия е дясностранна при 5 (3.65%) черепа и лявостранна при 7 (5.11%) черепа. Сред метопичната серия аплазия на челния синус е установена при 18 (19.35%) от общо 93 черепа. При 7 (7.53%) черепа аплазията е двустранна, а при 11 (11.83%) еностранна. При 9 (9.68%) черепа челният синус липсва вдясно и при 2 (2.15%) вляво. Така в контролната серия двустранната аплазия е по-рядка в сравнение с еностранната, като честотата на лявостранна аплазия е по-висока, докато в метопичната серия еностранната аплазия също е по-често срещана, но дясностранната аплазия доминира.

Обобщената честота на аплазия и недоразвитие на челния синус, отчетено по хемикрани, е приблизително два пъти по-висока в метопичната серия (29.03%) в сравнение с контролата (16.79%). Подобна тенденция е наблюдавана от Guerram et al. (2014) (57.9 vs. 11.9%). Следователно, може да се допусне, че тази разлика изразява тенденция запазването на метопичния шев да потиска развитието на челния синус във вертикалната част. При наличие на пневматизация, то тя е преференциално от лявата страна. Тази тенденция за преобладаваща пневматизация на левия дял на челния синус и недоразвитие или липса на десния при метопични черепи се съобщава и от Bilgin et al., (2013). Това предразполага към по-голям риск от засягане на левия синус в сравнение с десния при супраорбитална краниотомия (Tatlisumak et al., 2008).

Дигитален радиоморфометричен анализ на челния синус е извършен между дефинирани референтни линии (Schmittbuhl and Le Minor, 1998; Schmittbuhl et al., 1999; Ribeiro, 2000), очертани по правила, въведени от Ribeiro (2000) (Фиг. 17). Измерени са общо 18 размера, от които 6 (2 в мидсагиталната равнина и 2 билатерални) снети съгласно методиката на Ribeiro (2000) и 12 (2 в мидсагиталната равнина и 5 билатерални) допълнителни, предложени от нас. Изчислен е и индекс на челния синус. Сравнението между двете серии показва, че в метопичната серия най-високите точки на челния синус вляво и вдясно са значително отдалечени от мидсагиталната линия, като левият синус е значително по-висок при контролата. Орбиталната широчина при метопичната серия е значително по-голяма. Освен това левият челен синус в контролата е относително по-висок спрямо неговата широчина.

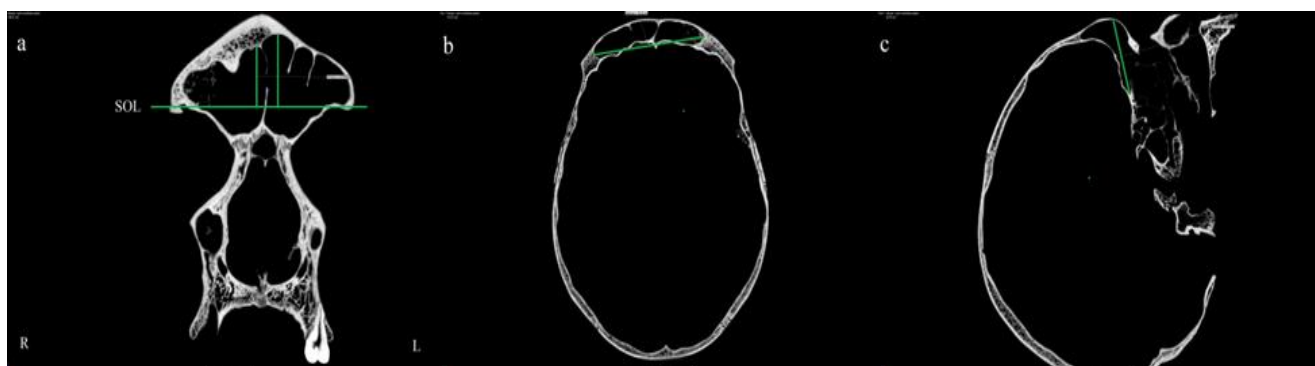


Фигура 17. Референтни линии и точки. Абрев. MSL – мидсагитална равнина; MedOL – медиална орбитална линия; LOL – латерална орбитална линия; SOL – супраорбитална линия. А, В – наи-страничните точки на челния синус; С, D – наи-високите точки на десния и левия лоб на челния синус; *ft* – *frontotemporale*; *m* – *metopion*; *n* – *nasion*; *o* – *orbitale*; *po* – *porion*

Може да се обобщи, че недоразвитието на челния синус се наблюдава по-често сред метопичната серия в сравнение с контролата, като двустранната хипоплазия е по-рядка от едностранната, която е изключително дясностранна. Следователно, значително по-широкото и високо чело при метопичната серия не е свързано с по-голяма пневматизация на челния синус, който при метопизъм се развива отделно от двете страни на шева, без да преминава отвъд мидсагиталната равнина.

5.2. Пневматизация в хоризонталната част на челната кост

За да се оцени дали значително намалената пневматизация във вертикалната част на челната кост при метопични черепа е компенсирана със значителна по-голяма такава в хоризонтална част, челният синус е изследван върху общо 125 (50 метопични и 75 контролни) обемни тримерни изображения на черепа, генерирани чрез μ СТ по приетия протокол. Изследвани са общата ширина на челния синус, както и височината и дълбочината на всеки от двата дяла на челния синус (Фиг. 18).



Фигура 18. Размери на челния синус: а) височина на десния и ляв дял на челния синус, измерени в коронално сечение; б) обща ширина на челния синус, измерена в трансверзално сечение; в) дълбочина на челния синус, измерена в сагитално сечение. Съкращения: SOL – супраорбитална линия.

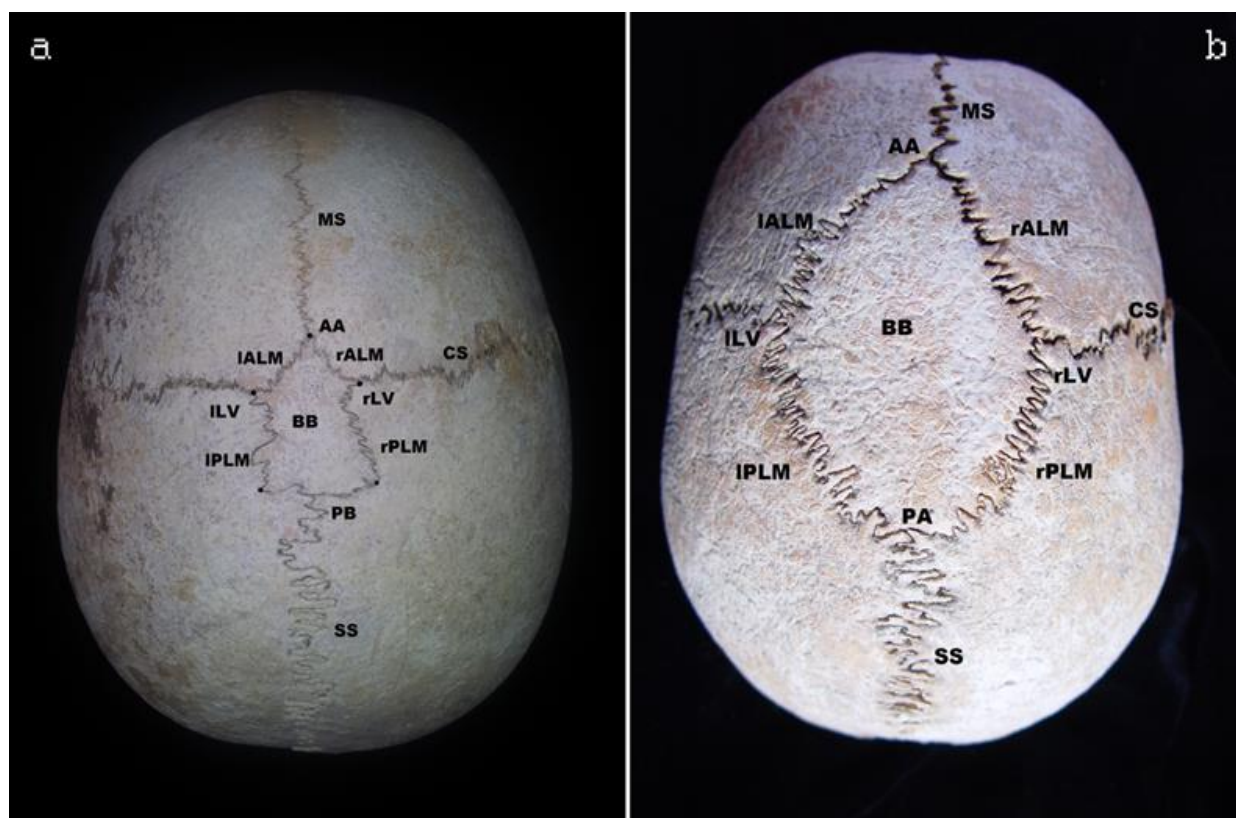
Установи се, че всички размери на челния синус са значително по-големи в контролната серия, с изключение на дълбочината на левия дял на челния синус, която отново е по-малка при метопичните черепа, но различието не достига статистическа значимост. И при двете серии всички корелации между размерите на челния синус са положителни и значими. Така, хипотезата, че намалената пневматизация във вертикалната част би могла да бъде компенсирана с хиперпневматизация в хоризонталната част, не се потвърди.

6. Метопизъм, анатомични вариации и патологични състояния

6.1. Метопизъм и свръхбройни кости: Вормиеви кости и фрагментирани осификационни центрове

6.1.1. Брегматична кост

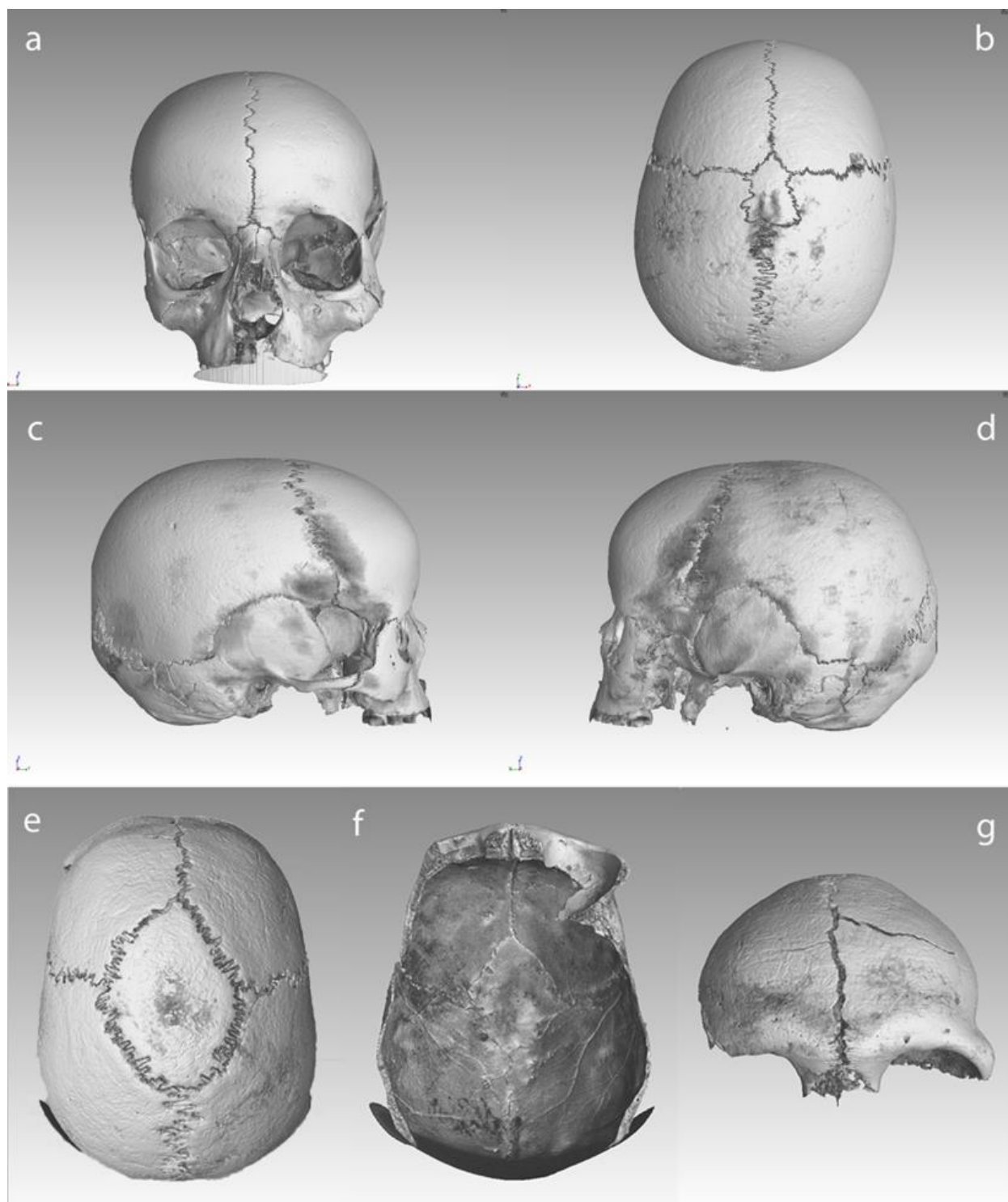
Изследвани са два метопични черепа от остеологичната колекция на ИЕМПАМ-БАН, демонстриращи брегматични кости. Първият череп принадлежи на дете около 7-8 годишна възраст (Фиг. 19а), а вторият на израснал мъжки индивид 25-35 г. (Фиг. 19b). Черепите са сканирани с μ СТ система и е изследвана костната структура (Фиг. 20).



Фигура 19. Брегматични кости: (а) в детския череп; (b) в череп на израснал индивид. Означения: MS – metopic suture; CS – coronal suture; SS – sagittal suture; AA – anterior apex, IALM – left anterolateral margin; rALM – right anterolateral margin; ILV- left lateral vertex, rLV – right lateral vertex; IPLM – left posterolateral margin; rPLM – right posterolateral margin; PB – posterior base; PA – posterior apex

И двата индивида имат голяма брегматична кост, която е видима по ендо- и ектокраниалната повърхност. Брегматичната кост при детския череп е с неправилно пентагонално очертание, докато брегматичната кост при израсналия индивид е с правилна ромбоидна форма и заема точно мястото на предната фонтанела. И при двата черепа

метопичният шев е запазен и видим по ендо- и ектокраниалната повърхност. Шевът се разполага между *nasion* и предния връх на брегматичната кост (Фиг. 20).



Фигура 19. Тримерна реконструкция: (a-d) на детския череп; (e-g) на черепния свод на израсналия индивид

При детския череп се наблюдават Вормиеви (шевови) костици в задната част на сагиталния и в ламбдовидния шев. При израсналия индивид в горната част на тилната люспа, под *lambda*, е позиционирана относително голяма Вормиева кост. Налична е също и по-малка Вормиева кост, която вероятно е била разположена в ламбдовидния шев. Микроструктурата на брегматичната кост и околните кости на черепния свод и при двата индивида са с типичната триламинарна структура. В черепните кости на израсналия индивид не се наблюдават патологични отклонения в дебелината на диплоето. При детския череп липсват следи от пневматизация на челната кост и развитие на челен синус. При израсналия индивид челният синус е голям, асиметрично развит от двете страни на метопичния шев, като левият дял е по-голям от десния. В левия дял на челния синус се наблюдава радиоплътна склерозна костна лезия, която има характеристиките на остеома.

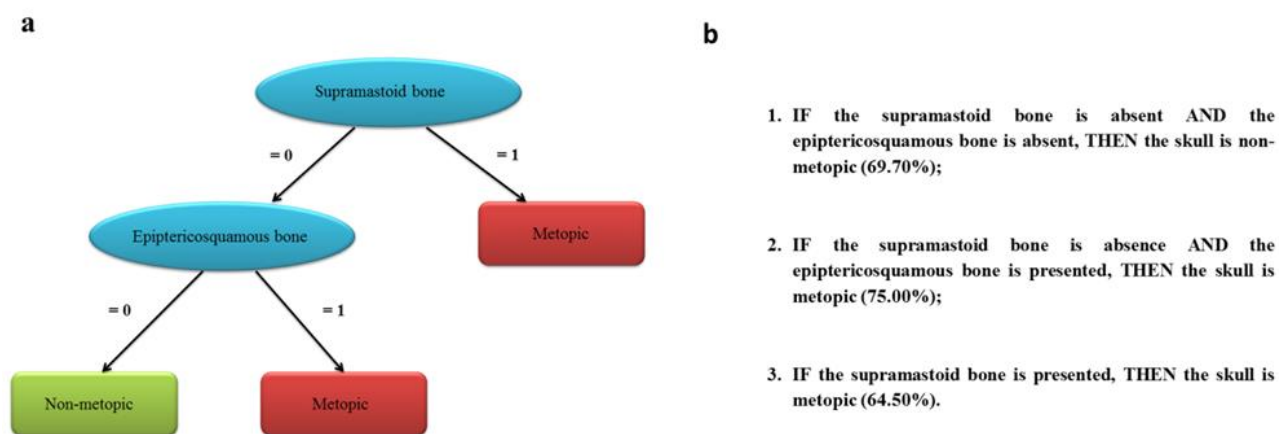
Рядката комбинация от персистиращ метопичен шев и брегматична кост би могла да се разглежда като механизъм за поддържане на оптимален баланс между формата и размера на черепния свод при наличие на специфични аномалии в развитието. Тези структури също могат да бъдат разглеждани като необходими допълнителни места за регулиране на костния растеж в отговор на изискванията на нарастващия мозък при специфични условия.

6.1.2. Свърхбройни кости в черепния свод

Проведени са експерименти, в които изследваните метопични и контролни черепа са описани изцяло посредством качествени признаци (атрибути), които отразяват различни по вид анатомични вариации в строежа на черепа, а върху събраните данни са приложени подходи от машинното обучение. Като класификатор е използван алгоритъмът J48, а точността на класификацията е оценен чрез LOOCV процедура. Най-добре подрязаното дърво на решенията J48 е показано на Фигура 21a, а съответният набор от класификационни правила – на Фигура 21b. Точността, постигната чрез използване само на качествени атрибути, е 64%, което е доста незадоволителен резултат

Сравнението в разпределението на анатомичните вариации при двете серии показва, че епиптерната кост (*os epiptericum*), епиптерикосквамозната (*os epiptericosquamosum*), супрамастоидната (*os supramastoideum*) и Вормиевите кости в ламбдовидния шев са значително по-често срещани в метопичната серия. Така,

свърхбройните кости в сфеноидната фонтанела, около слепоочната люспа и по дължината на ламбдовидния шев биха могли да се разглеждат като допълнителни центрове, които компенсират значително по-широката, но по-къса челна кост при метопичните черепи. Търсенето на различни модели, обясняващи проявлението на анатомичните вариации в наличните данни, показва взаимовръзката между съхраняването на метопичния шев и формирането на свърхбройни кости, произлизащи от допълнителни осификационни центрове (Фиг. 21).



Фигура 21. Дърво на решенията и правила за класификация, индуцирани на базата на качествени признаци: а) J48 дърво на решенията, използващо само два качествени атрибута; б) Правила за класификация, съответстващи на това дърво.

6.1.3. Свърхбройни кости в тилната област

Сравнени са размерът и формата на мозъковия дял при 245 мъжки черепа от костницата към НВИМ-София, организирани в четири групи: контролна серия без вариации в челната и тилната кости (C; n = 115); метопични черепа без вариации в тилната област (MS n = 32); черепа с допълнителни кости в тилната област (SB; n = 67); черепа с метопизъм и допълнителни кости в тилната област (MS-SB; n = 31). Тилната област е изследвана за наличие на следните вариации: интерпариетална кост (инкова кост и нейните подварианти); преинтерпариетална кост; кост в задната фонтанела; костица в

asterion; голяма единична шегова костица в ламбдовидния шев; три или повече малки шегови костици в ламбдовидния шев.

Морфометричното изследване е извършено върху полигонални модели на черепите, от които са снети тримерните координати на общо 35 точки. Грешката при дигитализацията за всички точки е оценена като приемлива за целите на изследването. Точките са групирани в четири конфигурации, описващи целия мозъков дял, както и неговите части: челната кост, парieto-темпоралната област и тилната кост.

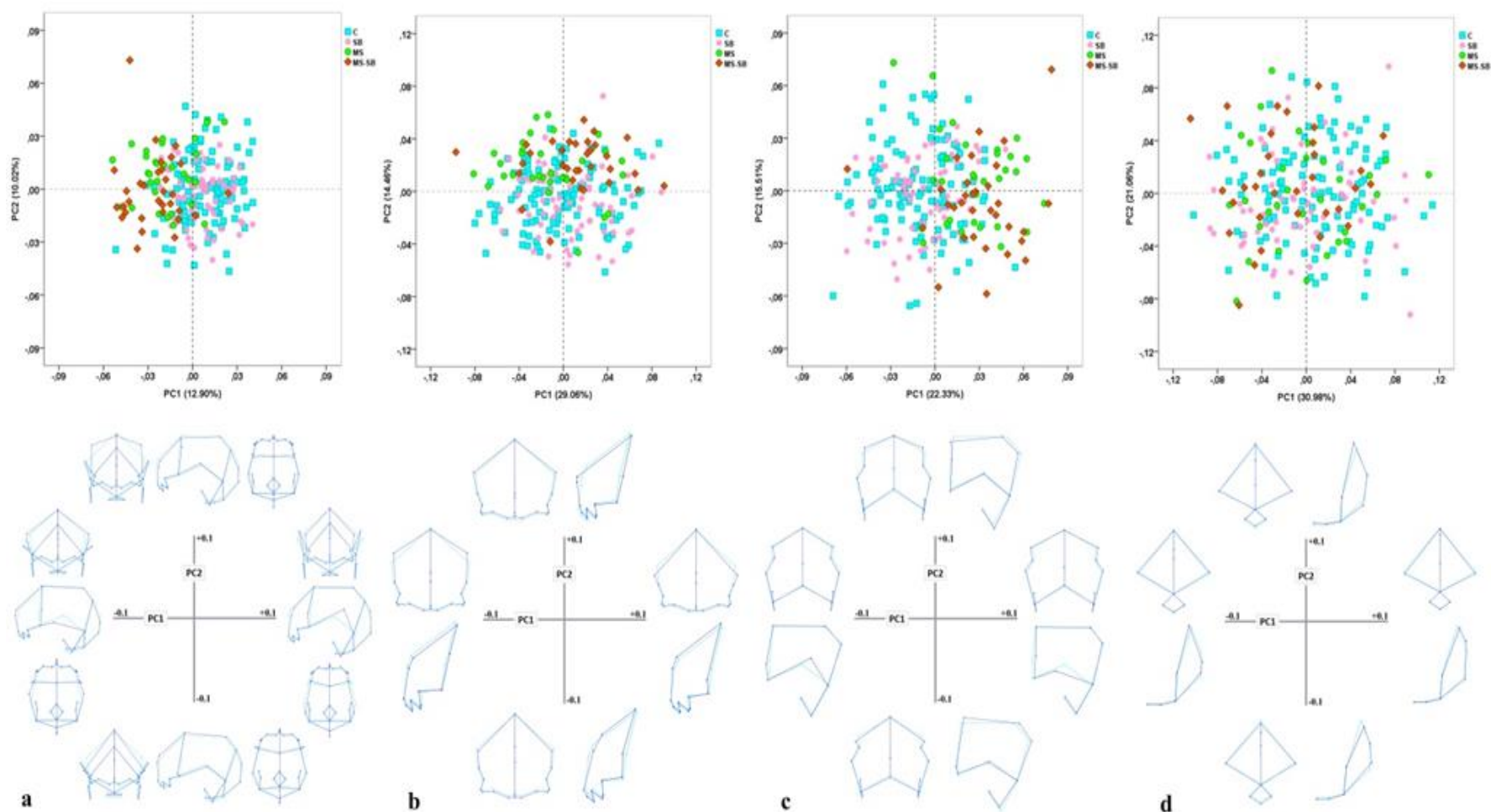
За сравняване на големината и формата на конфигурациите от точки в изследваните серии са приложени анализи от геометричната морфометрия (GM). Големината на всяка конфигурация е измерена чрез размера на центроида (CS). Разликите в големината между изследваните четири групи е тествана чрез one-way ANOVA с post hoc теста на Tukey за множество сравнения по двойки. Нормалността и хомоскедастичността на данните за размера на центроида са тествани предварително, като е използван съответно тестът за нормалност на Shapiro-Wilk и тестът за еднаквост на дисперсиите на Levene.

Размерът на центроида (CS) показва значителни различия само в конфигурациите на челната и тилната кост. Челната кост при неметопичните черепи (C и SB) е значително по-малка, но само в сравнение с метопичните черепи с вариации в тилната област (MS-SB). В същото време, тилната конфигурация при MS-SB серията е значително по-малка в сравнение с контролата (C). Тези Резултати показват, че модификацията в размера на метопичните черепи, която се изразява в значително уголемяване на челната кост за сметка на намаляване на теменно-темпоралната и тилната области (виж раздел 4.5.), е значима само при метопични черепи с допълнителни кости в тилната област.

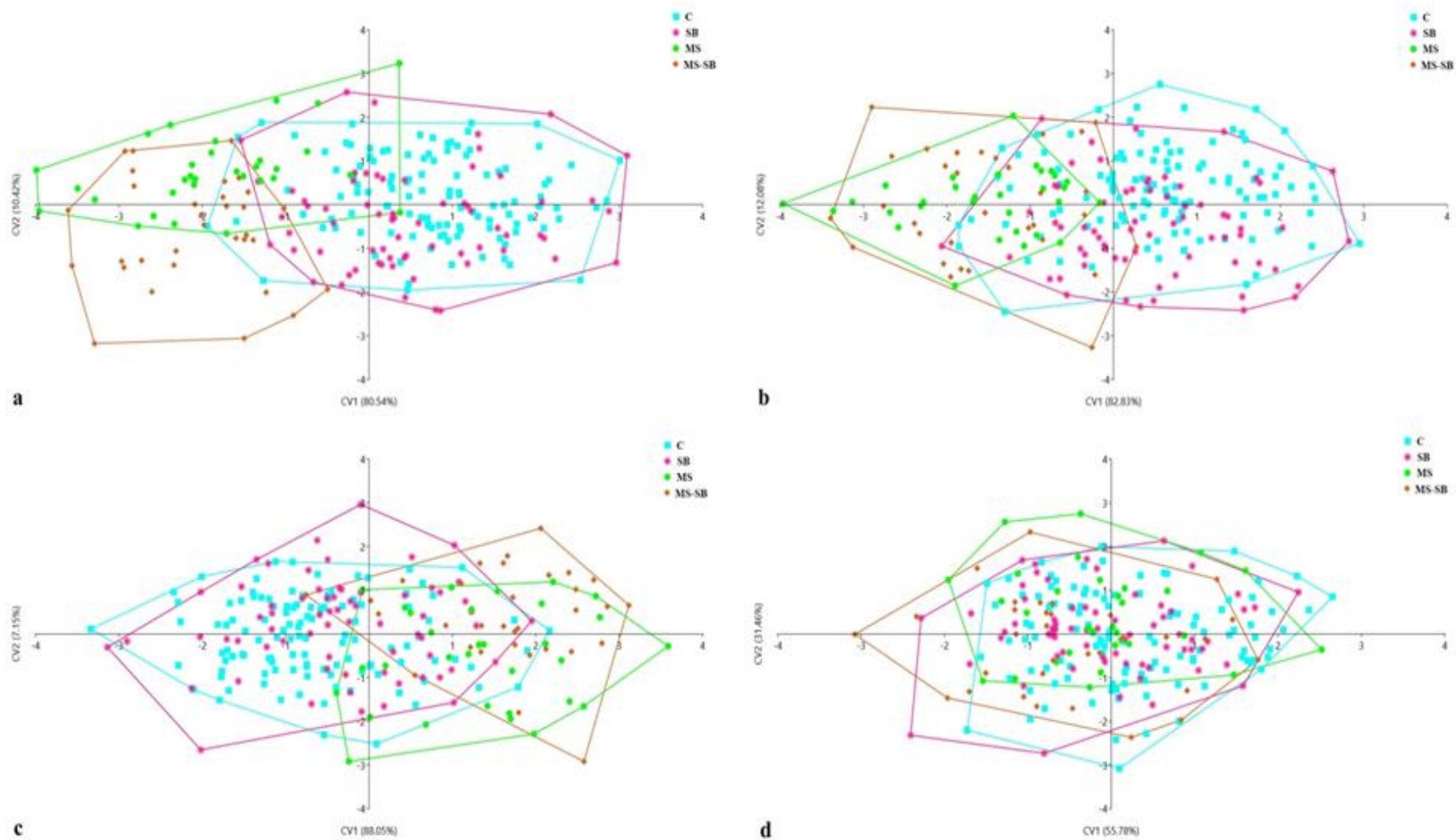
Координатите на точките от всяка конфигурация са подложени на GPA и са изчислени Прокрустови координати за форма. Ефектът от алометрията е оценен чрез прилагане на многовариантна регресия на Прокрустовите координати върху логаритмично трансформирания размер на центроида (CS). Всички конфигурации от точки показват значителен ефект на размера върху формата, поради което като входни променливи при анализите са използвани регресионните остатъци, т.е. алометрично коригираните променливи за форма на всяка конфигурация.

Анализът на основните компоненти (PCA) е приложен за изследване на вариациите на формата в извадката, както и за намаляване на размерността, като по този начин са изчислени по-малък брой некорелиращи променливи (главни компоненти, PC). Различията във формата между групите са оценени въз основа на главните компоненти (PC), запазващи 95% от вариацията на формата на оригиналните данни. По този начин са редуцирани броят на зависимите променливи до по-малък брой от размера на най-малката подгрупа в изследването. Статистическата значимост на разликите във формата между четирите групи са тествани чрез прилагане на one-way PERMANOVA с корекция на Bonferroni за сравнения по двойки. Евклидовото разстояние е използвано като вид изчисление на близостта между извадките. Значимостта на различията при PERMANOVA е оценена чрез пермутационен тест с 9999 повторения.

Получените резултати показват, че формата на целия мозъков дял, челната кост и теменно-темпоралната област се различава значимо при всички сравнения между метопичните и неметопичните серии, което демонстрира важната връзка между персистиращия метопичен шев и формата на мозъковия дял на черепа (Фиг. 22). Незначителните различия вътре в групите на контролните (C и SB) и метопичните черепи (MS и MS-SB) показват, че допълнителните кости сами по себе си не водят до специфични промени във формата. CVA демонстрира, че контролните черепи (C и SB) се припокриват изцяло и не могат да бъдат разделени по форма. Разделяне между MS и MS-SB може да се види във формата на целия мозъков дял, но локалните конфигурации не показват такова разделение (Фиг. 23). Може да се заключи, че метопизмът оказва значително влияние върху цялостната морфология на мозъковия дял, което се засилва от наличието на допълнителни кости в тилната област.



Фигура 22. Диаграми на вариациите във формата по PC1 към PC2 и съответните схеми тип „wireframe“, показващи конфигурациите на формата при PC1 и PC2 екстремуми: а) мозъков дял; б) челна кост; в) парието-паритална област; д) тилна кост. Легенда: сини квадратчета – контролна серия (C); розови звездички – черепа с допълнителни кости в тилната област (SB); зелени точки – метопични черепа (MS); кафяви ромбчета – метопични черепа с допълнителни кости в тилната област (MS-SB); светлосини очертания – средната форма; тъмносини очертания – екстремни конфигурации на формата по осите на основните компоненти



Фигура 23. CVA резултати за конфигурациите от точки: а) мозъков дял; б) челна кост; в) парието-паритална област; д) тилна кост. Легенда: сини квадратчета – контролна серия (C); розови звездички – черепи с допълнителни кости в тилната област (SB); зелени точки – метопични черепи (MS); кафяви ромбчета – метопични черепи с допълнителни кости в тилната област (MS-SB)

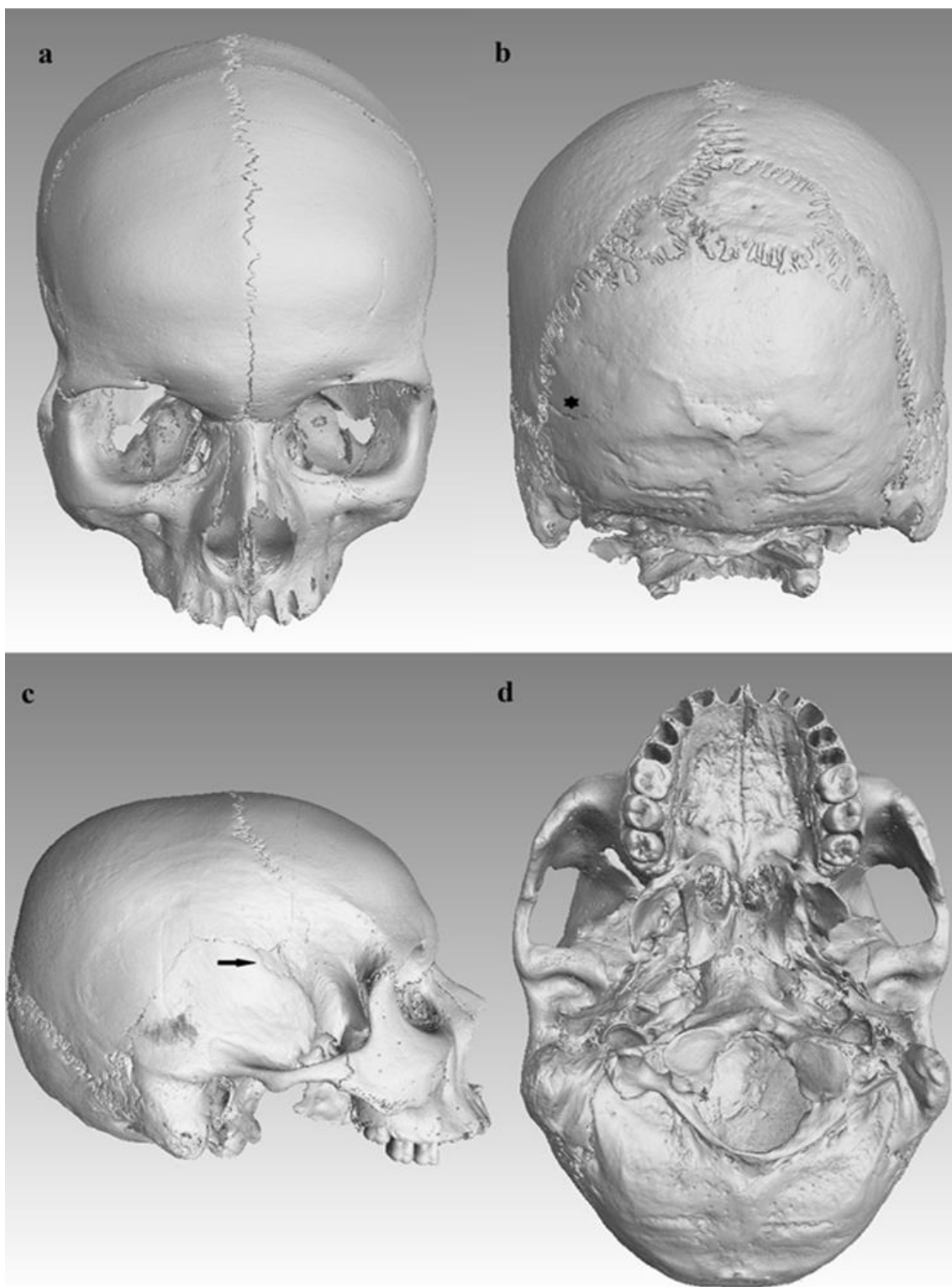
6.2. Метопизъм и окципитализация на атласа

Изследван е череп на израснал мъж от костницата към НВИМ-София, показващ рядка комбинация от различни анатомични вариации в неврокраниума, а именно персистиращ метопичен шев, свръхбройни кости в черепния свод и окципитализация на атласа (Фиг. 24). Черепът е сканиран с μ СТ системата, следвайки установения протокол за сканиране за сухи черепи (Фиг. 25).



Фигура 24. Череп на израснал мъжки индивид; а) паритален изглед; б) тилен изглед; в) базален изглед

Предвид развитието на тилната кост, механизмите, водещи до формирането на наблюдаваните вариации изглеждат несвързани, тъй като асимилацията на атласа се случва много по-рано в ембриогенезата, в сравнение с несливането на осификационните центрове на интрамембранната част на тилната люспа и появата на Вормиеви кости в областта на *lambda*, които се появяват след шестия ембрионален месец. Както вече се установи, метопизмът често е придружен от допълнителни кости и остатъци от други ембрионални шевове, както е и в този конкретен случай. С оглед на морфогенезата на черепния свод, тези вариации са тясно свързани помежду си и тяхното натрупване и свръхекспресия са типични за някои вродени отклонения, свързани с нарушена интрамембранна осификация.



Фигура 25. Тримерна реконструкция на черепа; а) челен изглед: изцяло запазен метопичен шев; б) тилен изглед: допълнителни кости в интерпариеталната част на тилната люспа, остатък от мендозния шев (звездичка); в) страничен изглед отдясно: непълна епиптерна кост; д) базален изглед: окципитализация на атласа

6.3. Метопизъм и патологични състояния

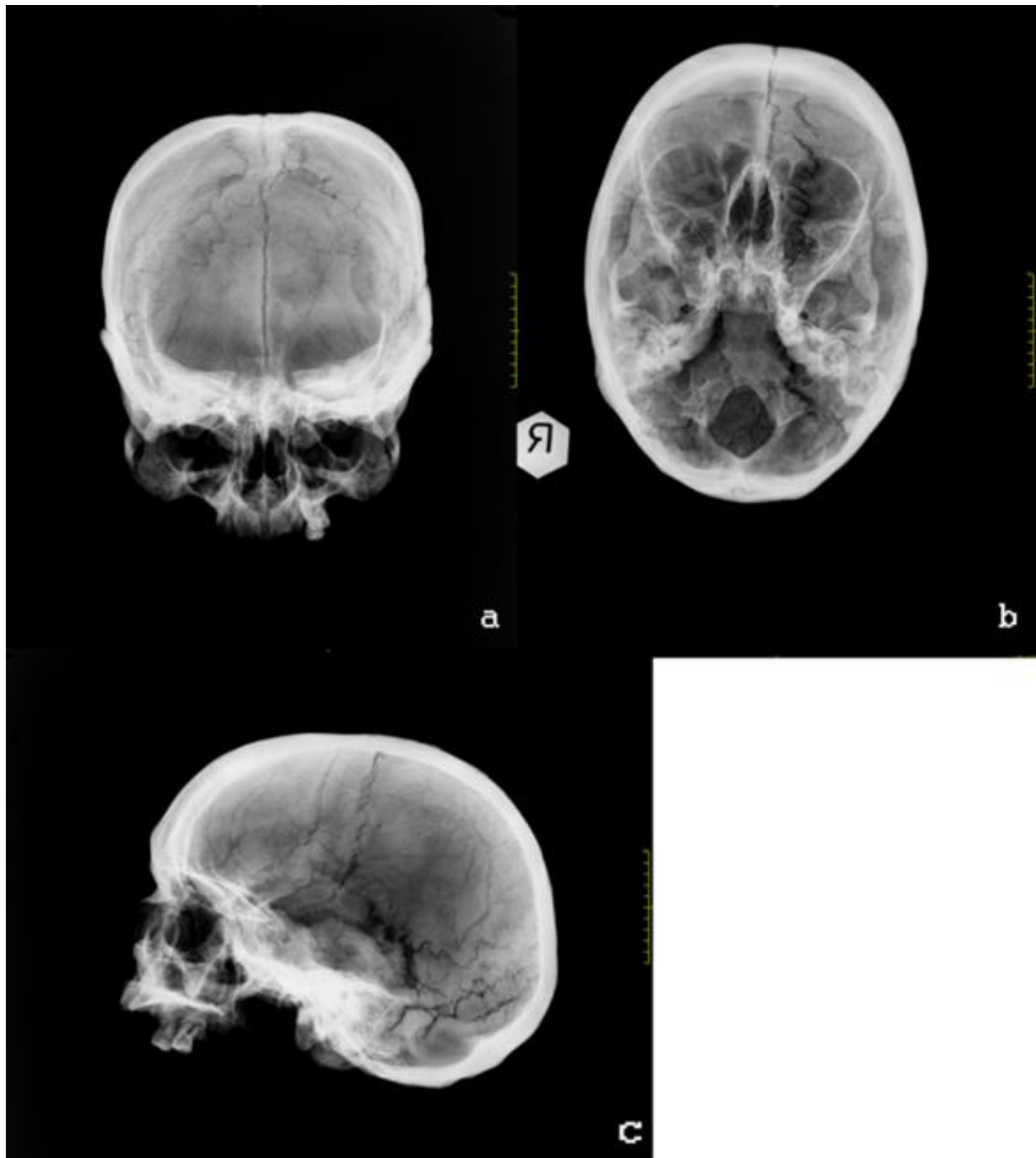
Изследван е череп от остеологичната колекция на ИЕМПАМ-БАН, демонстриращ комбинация от белези, показващи генерализирано смущение в интрамембранната осификация (Фиг. 26).



Фигура. 26. Фронтален и базален и изглед на черепа; Десен и ляв задно-стрианчен изглед на черепа с множество шевови костици; Ляв страничен изглед на черепа, показващ К-образна стенократифия (стрелка) и множество шевови костици. Горен и заден изглед на черепа

В изследвания череп на израснал индивид, комбинацията от многобройни Вормиеви кости, съхранен метопичен шев и недоразвити параназални синуси (Фиг. 27), заедно с изразената хипоплазия на лицевия дял и цялостната конфигурация на черепа, подсказват асоциация с вродено заболяване от групата на скелетните дисплазии с изразено засягане на интрамембранната осификация, каквато е и клейдо-краниалната дисплазия

(*cleidocranial dysplasia*, CCD, OMIM 119600). Клейдо-краниалната дисплазия е автозомно доминантно скелетно заболяване, което се развива в резултат на хaplонедостатъчност на *RUNX2* генът, който кодира транскрипционен фактор RUNX2, необходим както за остеобластната диференциация, така и за узряването на хондроцитите.

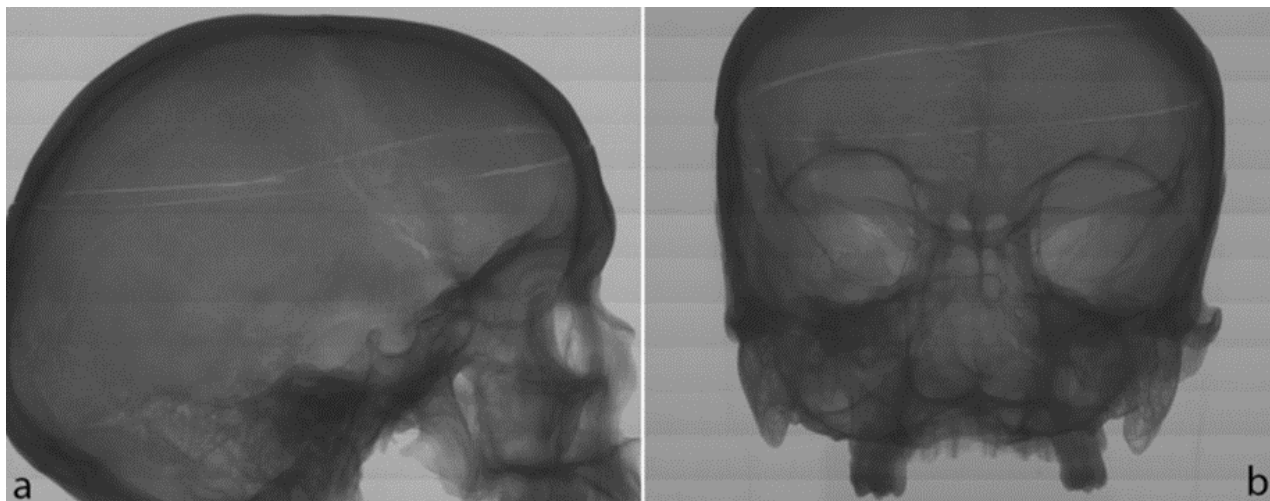


Фигура 27. Радиографии на черепа в задно-предна (а), базална (b) и латерална (c) проекции.

Изследвани са и костни останки на мъжки индивид от костницата към НВИМ-София, демонстриращи признаци на смущения в интрамембранната осификация, подобно на описания случай, но в по-умерена степен (Фиг. 28, 29).



Фигура 28. Изгледи на черепа: а) челен; б) теменен; с) базален; d) десен страничен



Фигура 29. Цифрова радиография на черепа: а) страничен изглед ; б) челен изглед.

VI. Обобщение и перспективи

Нашите наблюдения върху **структурата на черепните шевове** в различни етапи на облитерация при сухи черепи потвърждават, че отвореният (функциониращ) шев се характеризира със сравнително голямо разстояние между компактните костни ръбове на съседните черепни кости. В процеса на затваряне шевът претърпява редица морфологични промени, свързани с реорганизация на костната микроархитектура, които водят до заличаването му. Ремоделирането на областта на шева води до формиране на структура, която следва 3-слойния модел на организация на плоските черепни кости. Процесът на затваряне на сагиталния шев обикновено напредва по посока от вътрешната пластинка, през диплоето към външната пластинка, но е неравномерен и може да бъде иницииран на нивото на всеки един от трите костни слоя. Затварянето на сагиталния шев започва и се разпространява едновременно по цялата му дължина, т.е. не се инициира в определено място.

Базирайки се на наблюдаваните промени в микроархитектурата на шева по време на затварянето му, разработихме оригинална **описателна скала** за отчитане на контакта между костните ръбове в напречно сечение на нивото на всеки един от костните слоеве, което ни позволи да оценим прецизно степента на затваряне на сагиталния шев. Така, отчитайки затварянето на шева по цялата му дължина при индивиди с известна възраст при смъртта, доказахме, че между затварянето на сагиталния шев и възрастта на индивида

съществува положителна, но слаба корелация, т.е. затварянето на шева не се явява единствено функция на възрастта, а факторите, които инициират и управляват този процес, са комплексни и разнородни.

С цел да разработим регресионни модели за **определяне на възрастта при смъртта** по степента на затваряне на сагиталния шев, приложихме алгоритми от машинното обучение. Установихме, че най-точните модели са научени от набора от данни, който описва примерите само чрез степента на затваряне на външната пластинка по дължината на сагиталния шев, като всяко добавяне на други атрибути влошава прогнозната способност на научените модели. Получените резултати недвусмислено показват, че затварянето на сагиталния шев не е надежден индикатор за възрастта при смъртта на индивида, т.е. следва да се използва само като помощно средство при остеологични експертизи.

Нашите изследвания предоставят оригинални доказателства, че **затварянето на сагиталния шев** при метопични черепи е значимо забавено спрямо това при контролни черепи. Това ясно показва, че факторите, отговорни за поддържането на метопичния шев функциониращ, не действат локално, а повлияват и останалите шевове на черепния свод. Грешката, с която разработените от нас модели определят възрастта при смъртта на индивиди с метопизъм по степента на затваряне на сагиталния шев, е толкова голяма, че ги прави практически неизползваеми, т.е. можем да заключим, че при метопични черепи почти напълно липсва връзка между затварянето на шевовете и възрастта.

Приложените интердисциплинарни подходи ни позволиха да направим множество **сравнителни морфометрични анализи** и да анализираме данни, снети от хомогенни и статистически представителни метопична и контролна черепни серии. Сравнителните изследвания на **носово-челната и орбиталната области** демонстрират, че метопизмът е свързан със специфична морфология и при двете зони. Обратно на очакванията ни установихме, че значимите различия в носово-челната област не са във височината на челото, а се отнасят предимно за носовите кости, които са по-къси и по-широки при метопичната серия. Според ъгловата характеристика метопичните черепи се характеризират с по-слабо профилирана челна област и носови кости. Установихме също, че размерите и площта на входа на очницата не се различават значимо между метопичната и контролна серии, а по-голямата биорбитална широчина при метопичната серия се дължи

на достоверно по-голямото междуочнично разстояние, което от своя страна е предпоставка за по-широк носов мост.

За да селектираме признаците, които най-силно разграничават метопичните и контролните черепи, описахме сериите чрез количествени (метрични) и качествени (анатомични вариации) признаци и върху данните приложихме подходи от областта на извличането на знания от данни. Най-точният генериран модел представлява **дърво на решенията**, което достига класификационна точност от 83% и се базира на 4 количествени признака, които характеризират челната кост.

За да сравним метопичните и контролни черепи отделно по **големина и форма** приложихме подходи от областта на геометричната морфометрия. Установихме, че значими различия по отношение на **големината** се откриват единствено в мозъковия дял, но само при сравнението му по сегменти, т.е. различията са регионални и отразяват преразпределяне на черепното пространство, а именно при еднакъв общ размер на мозъковия дял, предната (фронтална) част при метопичните черепи е увеличена за сметка на средната (парието-темпорална) и задната (тилна) части. Нашите оригинални резултати показват, че **формата** при метопичната и контролната серии се различава достоверно при всички конфигурации от точки. Различието е изразено най-силно в парието-темпоралния сегмент, докато при тилната кост вариацията във формата е повлияна значимо от размера. Най-общо модификацията във формата при метопичната серия се изразява в медиио-латерално разширяване и предно-задно скъсяване, което допринася за глобуларно очертание на черепа при метопизъм.

Получените резултати категорично показват, че въпреки тясната взаимовръзка в развитието на черепните свод и основа, запазването на метопичния шев, свързано със специфична конструкция на свода, не води до промяна в **профилировката на основата**, изразена чрез ъгъла на основата. Стъпвайки на получените резултати от сравнителните изследвания върху черепната морфология при метопизъм, можем да обобщим, че метопизмът е свързан със специфична модификация в свода на черепа, която обаче няма отражение върху профилировката на черепната основа.

Нашите оригинални резултати ясно очертават тенденцията персистиращият метопичен шев да бъде съпътстван от намалена **пневматизация на челния синус** във вертикалната част на челната кост. Двустранната аплазия на челния синус е по-рядко

срещана от едностранната, която е предимно дясностранна. Същевременно нашите резултати демонстрират и че пневматизацията на челния синус е пространствено-координиран процес, чийто прогрес е пропорционално изразен във вертикалната и хоризонталната части на челната кост, т.е. по-слабата пневматизация във вертикалната част на челната кост при метопичната серия не се компенсира от по-силно изразена пневматизация в хоризонталната част.

В нашите изследвания наблюдавахме, че метопичните черепи често демонстрират **свърхбройни кости** в черепния свод, формирани чрез фрагментация на нормалните осификационни центрове и възникване на допълнителни центрове в черепните шевове и фонтанели. Установихме също, че допълнителните кости в тилната област сами по себе си не водят до специфични промени във формата и големината на черепа. Метопизмът от своя страна оказва значимо влияние върху цялостната морфология на мозъковия дял, което се засилва от наличието на вариации в тилната област.

Обобщено, нашите резултати дават конкретни доказателства, че **метопизмът се асоциира със специфична конфигурация на черепния свод, забавено затваряне на основните шевове, наличие на свърхбройни кости и недоразвитие на челния синус**. Комбинацията от всички тези белези ясно демонстрира, че различието между метопичните и неметопичните черепи не е единствено в затварянето на метопичния шев. Така, персистиращият метопичен шев не изглежда като изолирана вариация, ограничена до челната кост, която предизвиква проявлението на всички останали специфични характеристики. Точно обратното, по-вероятно изглежда съвкупността от тези белези да е проява на генерализирано състояние, свързано със смущение в процеса на интрамембранна осификация, изразено чрез забавено затваряне на шевовете, нессливане между нормалните осификационни центрове и образуване на допълнителни такива, които да компенсират недостатъчния остеогенен потенциал на основните центрове. Ето защо, аналогично на краниосиностозата (преждевременното затваряне), метопизмът (отложеното затваряне) не следва да се разглежда единствено като изолирано и случайно отклонение в периода на нормално функциониране на шева. Всичко сочи, че **метопизмът е комплексно състояние, израз на смущение в развитието**, което обаче по-рядко има конкретна клинична изява. Трябва да се отбележи също, че комбинацията от метопизъм, множество Вормиеви кости и недоразвитие на челния синус е характерна за различни

вродени заболявания, каквито са *osteogenesis imperfecta*, *cleidocranial dysostosis* и *pyknodysostosis*. Така, границата между случайна комбинация от „безвредни“ вариации и симптоми на определено заболяване е значително трудно да бъде поставена.

След като установихме, че метопичните черепи значително се различават по редица белези от контролата, следва да се насочим към **търсенето на причините**, които индуцират проявата на всички специфични промени в черепната морфология при метопизъм. Важно е обаче да разглеждаме метопизма като състояние, свързано със смущение в интрамембранната осификация, което може да бъде различно изразено – от комбинация на „безвредни“ вариации до скелетна дисплазия. Генерирането на дву- и тримерни изображения дава възможност за събиране и съпоставяне на данни от експериментални модели, остеологични колекции и клиничната практика. Прилагането на подходи от областта на математическото моделиране и изкуствения интелект за обработка, анализиране и интерпретиране на данните е важна стъпка към разработване на математически модели и симулации, които могат да допринесат съществено за изучаване на нормалното функциониране на черепните шевове и на отклоненията от него – краниосиностоza и метопизъм, включително и за установяване на границата между комбинация от „безвредни“ вариации и патология.

VII. Изводи

- 1.** Затварянето на сагиталния шев е свързано с реорганизация в костната микроархитектура, която води до пълното му заличаване. Процесът започва и се разпространява едновременно по цялата дължина на шева, като обикновено напредва по посока от вътрешната пластинка, през диплоето към външната пластинка.
- 2.** Корелацията между физиологичното затваряне на сагиталния шев и възрастта на индивида е положителна, но слаба. Факторите, които инициират и управляват този процес са комплексни и разнородни, а процесът не протича достатъчно равномерно, за да се използва без резерви при остеологични експертизи.
- 3.** Затварянето на сагиталния шев при метопичните черепи е значително забавено в сравнение с това при контролата, т.е. факторите, поддържащи метопичния шев отворен (функциониращ), не действат изолирано в областта на челната кост.
- 4.** Сравнителните анализи показват, че метопичните черепи се характеризират със специфични модификации в морфологията на черепния свод, орбиталната и носово-челната области, но не показват значимо различие в профилировката на черепната основа.
- 5.** Персистиращият метопичен шев често е съпътстван от намалена пневматизация на челния синус.
- 6.** Метопичните черепи често демонстрират свръхбройни кости в черепния свод, формирани чрез фрагментация на нормалните осификационни центрове, както и чрез възникване на допълнителни центрове в черепните шевове и фонтанели. Комбинацията от всички белези, характерни за метопичните черепи, би могла да се разгледа като израз на генерализирано смущение в интрамембранната осификация, което е свръхекспресирано при някои видове скелетни дисплазии.

VIII. Научни приноси

1. Приноси с научно-приложен характер

1.1. Разработени са протоколи за генериране на тримерни изображения на сухи черепи чрез лазерно сканиране и микро-компютърна томография при оптимални параметри, които да позволяват снемане на достоверни морфометрични данни и извършване на последващи статистически анализи.

1.2. Разработен е иновативен метод и е утвърден протокол за сканиране на обекти, по-големи от площта на детектора на μ СТ системата (Nikon XT H 225), чрез сканиране на два етапа и последващо сливане на двете серии от изображения с изрязване на припокриващите се части.

1.3. Създадена е виртуална колекция от тримерни изображения с висока резолюция (полигонални и обемни) на хомогенни метопична и контролна черепни серии на съвременни българи, която представлява уникална база за изследване на метопизма не само за България, но и в световен мащаб.

1.4. Разработена е оригинална 4-степенна скала за отчитане степента на затваряне на сагиталния шев в напречно сечение. Предложената скала дава възможност контактът между ръбовете да бъде оценен индивидуално във всеки слой и позволява коректно отчитане на степента на затваряне на шева.

1.5. Конструирани са конфигурации от точки, описващи морфологията на целия череп, както и на неговите дялове, и са приложени подходи от областта на геометричната морфометрия за сравнителни анализи на големината и формата при метопични и контролни черепни серии, с и без допълнителни кости в тилната област.

1.6. Адаптирани са и са приложени методи от областта на изкуствения интелект върху:

1.6.1. Качествени и количествени характеристики на черепа с цел извличане на признаците, които най-ясно разграничават метопичните от контролните черепи.

1.6.2. Данни за степента на затваряне на черепните шевове с цел създаване на модели за предсказване възрастта при смъртта на индивида.

2. Оригинални приноси с теоретичен характер:

2.1. Установено е, че отворените (действащи) черепни шевове имат отличителна структура, която се характеризира с компактни костни ръбове, ясно раздалечени помежду си. При затварянето, полето на шева се реорганизира до трислойната структура, характерна за костите на черепния свод.

2.2. Доказано е, че физиологичното затваряне на основните черепни шевове корелира положително, но слабо с възрастта на индивида. Това прави моделите за предсказване на възрастта при смъртта по степента на затваряне на шевовете ненадеждни.

2.3. Доказано е, че метопизмът е свързан с генерализирано забавяне в затварянето на шевовете на черепния свод, което потвърждава, че факторите, поддържащи метопичния шев функциониращ, не действат локално.

2.4. Демонстрирано е, че метопичните черепи се характеризират със специфични и значими модификации в черепния свод, орбиталната и челно-носовата области, но липсват значими изменения в профилировката на черепната основа, т.е. модификациите, свързани с метопизма обхващат предимно черепния свод, но не и черепната основа.

2.5. Установено е, че пневматизацията на челната кост е пространствено координиран процес и развитието на челния синус е значимо по-слабо изразено при метопизъм.

2.6. Изградена е хипотеза, че специфичните за метопизма характеристики могат да се разгледа като смущение в интрамембранната осификация, което е свръхекспресирано при някои видове скелетни дисплазии; следователно метопизмът трябва да се приема като комплексно състояние, свързано със смущение в развитието.

Публикации, свързани с дисертационния труд

1. Nikolova, S., Toneva, D. (2009). Wormian Bones in Lambdoid Suture. *Journal of Biomedical and Clinical Research*, Suppl. 1, 2(1):104-106.
2. Nikolova, S., Toneva, D. (2012). Frequency of metopic suture in male and female medieval cranial series. *Acta Morphologica et Anthropologica*, 19:250-252.
3. Nikolova, S., Toneva, D., Yordanov, Y., Lazarov N. (2014). Multiple Wormian bones and their relation with definite pathological conditions in a case of an adult cranium. *Anthropologischer Anzeiger*, 71(3):169-190. SJR (Scopus):0.208, JCR-IF (Web of Science):0.250
4. Nikolova, S., Toneva, D., Yordanov, Y., Lazarov, N. (2014). Variations in the squamous part of the occipital bone in medieval and contemporary cranial series from Bulgaria. *Folia Morphologica*, 73(4):429-438. SJR (Scopus):0.259, JCR-IF (Web of Science):0.336
5. Nikolova, S., Toneva, D. (2014). Incidences of anterior fontanel bone in cranial series from Bulgaria. *J. BioSci. Biotech.*, SE/ONLINE, 145-147.
6. Nikolova, S., Toneva, D., Maslarski, I. (2014). Wormian bones in the coronal suture. *Acta Morphologica et Anthropologica*, 21:121-124.
7. Nikolova S., Toneva D., Georgiev, I. (2015). A case of skeletal dysplasia in bone remains from a contemporary male individual. *Acta Morphologica et Anthropologica*, 22:97-107.
8. Toneva D., Nikolova, S., Georgiev, I., Tchorbadjieff, A. (2016). Intra- and interobserver measurement error of linear measurements on three-dimensional computed tomography models of dry mandibles. *Acta Morphologica et Anthropologica*, 23:102-110.
9. Nikolova, S., Toneva, D., Georgiev, I. (2016). A persistent metopic suture – incidence and influence on the frontal sinus development (preliminary data). *Acta Morphologica et Anthropologica*, 23:85-92.
10. Nikolova, S., Toneva, D., Georgiev, I., Yordanov, Y., Lazarov. N. (2016). Two cases of large bregmatic bone along with a persistent metopic suture from necropoles on the northern Black Sea coast of Bulgaria. *Anthropological Science*, 124(2):145-153. SJR (Scopus):0.641, JCR-IF (Web of Science):0.971
11. Toneva, D., Nikolova, S., Georgiev, I., Tchorbadjieff, A. (2017). Accuracy of linear craniometric measurements obtained from laser scanning created 3D models of dry skulls. *Studies in Computational Intelligence*, 681:215-229. SJR:0.184
12. Nikolova, S., Toneva, D., Georgiev, I. (2017). Cranial Base Angulation in Metopic and Non-metopic Cranial Series. *Acta Morphologica et Anthropologica*, 24(1-2):45-49.

13. Toneva, D., S. Nikolova, Georgiev, I. (2017). Accuracy of Linear Measurements on Polygonal Models of Dry Mandibles Generated From Industrial CT Data. *Acta Morphologica et Anthropologica*, 24(1-2):55-62.
14. Nikolova, S., Toneva, D., Georgiev, I., Harizanov, S., Zlatareva, D., Hadjidekov, V., Lazarov, N. (2017). A CT-study of the cranial suture morphology and its reorganization during the obliteration. *Collegium Antropologicum*, 41(2):125-131. SJR:0.180
15. Nikolova, S., Toneva, D., Georgiev, I., Lazarov, N. (2018). Digital radiomorphometric analysis of the frontal sinus and assessment of the relation between persistent metopic suture and frontal sinus development. *American Journal of Physical Anthropology*, 165(3):492-506. SJR (Scopus):1.276, JCR-IF (Web of Science):2.662
16. Nikolova, S., Toneva, D., Georgiev, I., Lazarov, N. (2018). Relation between metopic suture persistence and frontal sinus development. In: *Challenging Issues on Paranasal Sinuses*, Ed. Tang-Chuan Wang, IntechOpen, London, UK, 3-23.
17. Toneva, D., Nikolova, S., Zlatareva, D., Hadjidekov, V. (2019). Morphological Study of Jugular Foramen in Bulgarian Adults. *Acta Morphologica et Anthropologica*, 26(1-2):97-108.
18. Nikolova S., Toneva D., Georgiev I., Dandov A., Lazarov N. (2018). Morphometric analysis of the frontal sinus: application of industrial digital radiography and virtual endocast. *Journal of Forensic Radiology and Imaging*, 12:31-39. SJR (Scopus):0.384
19. Toneva, D., Nikolova, S., Harizanov, S., Georgiev, I., Zlatareva, D., Hadjidekov, V., Dandov, A., Lazarov, N. (2018) Sex estimation by size and shape of foramen magnum based on CT imaging. *Legal Medicine*, 35:50-60. doi:10.1016/j.legalmed.2018.09.009, SJR (Scopus):0.720, JCR-IF (Web of Science):1.404
20. Nikolova, S., Toneva, D. (2019). Frontal sinus dimensions in the presence of persistent metopic suture. *Acta Morphologica et Anthropologica*, 26(1-2):90-96.
21. Nikolova, S., Toneva, D., Georgiev, I., Lazarov, N. (2019). Sagittal suture maturation: Morphological reorganization, relation to aging, and reliability as an age-at-death indicator. *American Journal of Physical Anthropology*, 169(1):78-92. SJR (Scopus):1.110, JCR-IF (Web of Science):2.414
22. Nikolova, S., Toneva, D., Agre, G., Lazarov, N. (2020). Data mining for peculiarities in the configuration of neurocranium when the metopic suture persists. *Anthropologischer Anzeiger*, 77(2):89-107. SJR (Scopus):0.3354, JCR-IF (Web of Science):0.877
23. Toneva, D., Nikolova, S., Georgiev, I., Lazarov, N. (2020). Impact of Resolution and Texture of Laser Scanning Generated Three-Dimensional Models on Landmark Identification.

Anatomical Record - Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology, 303:1950-1965. SJR (Scopus):0.678, JCR-IF (Web of Science):2.064

24. Nikolova, S., Toneva, D., Dandov, A. (2020). Digital Morphometric Analysis and Comparison of Orbital Region in Metopic and Non-metopic Cranial Series. *Acta Morphologica et Anthropologica*, 27(1-2):53-60.

25. Nikolova, S., Toneva, D., Lazarov, N. (2021). Squamous suture obliteration: frequency and investigation of the associated skull morphology. *Anatomical Science International*, 69(1):42-54. SJR (Scopus):0.404, JCR-IF (Web of Science):1.693

26. Nikolova, S., Toneva, D., Lazarov, N. (2021). A comparative digital morphometric study of nasofrontal region in metopic and non-metopic cranial series. *Anthropologischer Anzeiger*, 78(4):347-358. SJR (Scopus):0.232, JCR-IF (Web of Science):0.667

27. Nikolova, S., Toneva, D., Agre, G. (2021). Reliability of sagittal suture maturation for age-at-death prediction assessed by means of machine learning techniques. *Forensic Imaging*, 26: 200461. SJR (Scopus):0.373

28. Nikolova, S., Toneva, D., Agre, G., Lazarov, N. (2022). Influence of persistent metopic suture on sagittal suture closure. *Annals of Anatomy*, 239:151811. SJR (Scopus):0.553, JCR-IF (Web of Science):2.976

29. Nikolova, S., Toneva, D., Tasheva-Terzieva, E., Lazarov, N. (2022). Cranial morphology in metopism: A comparative geometric morphometric study. *Annals of Anatomy*, 243:151951. SJR (Scopus):0.553, JCR-IF (Web of Science):2.976

30. Nikolova, S., Toneva, D. (2022). Metopic skull with occipitalization of the atlas. *Folia Morphologica*, /Ahead of Print/ ISSN: 0015-5659, e-ISSN: 1644-3284, doi: 10.5603/FM.a2022.0079 SJR (Scopus):0.307, JCR-IF (Web of Science):1.195

31. Nikolova, S., Toneva, D., Lazarov, N. (2023). Neurocranium morphology in the presence of anatomic variations in the frontal and occipital bone. *Anthropological Science /Ahead of Print/* SJR (Scopus):0.468, JCR-IF (Web of Science):1.185

32. Nikolova S, Toneva D, Zlatareva D, Fileva N. (2023). Osseous Bridges of the Sphenoid Bone: Frequency, Bilateral and Sex Distribution. *Biology*, 12(4):492. SJR (Scopus):0.903, JCR-IF (Web of Science):5.168

Научни съобщения, свързани с дисертационния труд

1. Nikolova S., Toneva D. Wormian bones in lambdoid suture. *XIX National Congress of the Bulgarian Anatomical Society with International Participation – Pleven, Bulgaria, May 29-31, 2009*
2. Nikolova S., Toneva D. *Os incaie* in male and female medieval and contemporary male cranial series. *VIII Национална конференция по антропология – гр. Копривица, 04-06 юни 2010 г.*
3. Nikolova S., Toneva D. Frequency of metopic suture in male and female medieval cranial series *V-ти Морфологични дни, IX-та Национална конференция по антропология – гр. София, 1-3 юни 2012 г.*
4. Nikolova S., Toneva D. Incidences of anterior fontanel bone in cranial series from Bulgaria. *3rd Balkan Scientific Conference on Biology – Plovdiv, Bulgaria, May 30 – June 1, 2014*
5. Nikolova S., Toneva D. Presence of Wormian bones in the coronal suture. *VI научна среща “Морфологични дни” – гр. София, 6-8 юни 2014 г.*
6. Nikolova S., Toneva D., Yordanov Y., Lazarov N. Multiple Wormian bones in a combination with completely preserved metopic suture – a case report. *20th European Meeting of the Paleopathology Association – Lund, Sweden, August 26 – 31, 2014*
7. Toneva D., Nikolova S., Georgiev I., Tchorbadjieff A. Accuracy assessment of linear craniometric measurements on a laser scanning created 3D model of a dry skull. *10th Annual Meeting of the Bulgarian Section of SIAM – Sofia, Bulgaria, December 21-22, 2015.*
8. Nikolova S., Toneva D., Georgiev I. Influence of a persistent metopic suture on the frontal sinus development. *20th European Anthropological Association (EAA) Congress – Zagreb, Croatia, August 24 – 28, 2016.*
9. Toneva Di., Nikolova S., Georgiev I. Accuracy of linear mandibular measurements obtained by three-dimensional computed tomography models on dry mandibles. *20th European Anthropological Association (EAA) Congress – Zagreb, Croatia, August 24 – 28, 2016.*
10. Toneva D., Nikolova S., Georgiev I., Tchorbadjieff A. Precision and reliability of linear measurements obtained on 3D CT models of dry mandibles. *X International Symposium of Clinical Anatomy – Varna, Bulgaria, October 6-8, 2016.*

11. Nikolova S., Toneva D., Georgiev I., Harizanov S., Lazarov N., Zlatareva D., Hadjidekov V. A CT-study of the cranial suture morphology and its reorganization during the obliteration. *36th ANTHROPOLOGY AND HEALTH CONFERENCE Anthropology in the Service of Global Health – Dubrovnik, Croatia, June 16-18, 2017.*
12. Nikolova S., Harizanov S., Toneva D., Georgiev I., Zlatareva D., Hadjidekov V., Lazarov N. Application of deblurring technique and segmentation on medical CT images for improved visualization of the cranial sutures. *XXIII Congress of the Bulgarian Anatomical Society – Varna, Bulgaria, October 5-7, 2017.*
13. Harizanov S., Nikolova S., Toneva D., Georgiev I. Improved cranial sutures visualization via digital image processing. *12th Annual Meeting of the Bulgarian Section of SIAM (BGSIAM'17) – Sofia, Bulgaria, December 20-22 2017*
14. Zlatareva D., Nikolova S., Toneva D., Hadjidekov V. Cranial configuration in the presence of bregmatic bone - a case study. *Kongres neuroradiologa Srbije, Belgrade, Serbia, June, 1-3, 2018*
15. Nikolova S., Toneva D., Georgiev I., Harizanov S., Lazarov N. Application of industrial μ CT for cranial suture examination. *26th International Symposium on Morphological Sciences – Prague, Czech Republic, July 5-7, 2018*
16. Nikolova S., Toneva D., Georgiev I. A case of bilateral squamosal suture obliteration in adult male skull. *21st Congress of European Anthropological Association – Odense, Denmark, August 22-25, 2018*
17. Georgiev I., Harizanov S., Nikolova S., Toneva D. Medical Image Resolution Enhancement with Applications in Virtual Anthropology. *7th CMAPT Workshop Computational Mathematics and APproximation Theory – Sozopol, Bulgaria, September 2-8, 2018*
18. Georgiev I., Gizdov A., Harizanov S., Nikolova S., Toneva D. Digital Cranial Suture Analysis with Application in Age Estimation. *13th Annual Meeting of the Bulgarian Section of SIAM – Sofia, Bulgaria, December 20-22, 2018*
19. Nikolova S., Toneva D., Lazarov N. Configuration of nasoglabellar region in metopic and non-metopic cranial series. *XXIV National Congress of the Bulgarian Anatomical Society with International Participation – Stara Zagora, Bulgaria, May 31 – June 02, 2019*

20. Dandov A., Nikolova S., Toneva D., Lazarov N. Application of industrial digital radiography for reliable morphometric analysis of the frontal sinus. *7th International Conference on Radiation in Various Fields of Research – Herceg Novi, Montenegro, June 10-14, 2019*
21. Nikolova S., Toneva D., Gizdov A., Harizanov S., Georgiev I. Cross-sectional automatic assessment of the degree of sagittal suture closure on μ CT volumetric images of dry skulls applying artificial neural network and machine learning techniques. *7th International Conference on Radiation in Various Fields of Research – Herceg Novi, Montenegro, June 10-14, 2019*
22. Toneva D., Nikolova S., Agre G., Georgiev I., Lazarov N. Discovering of the most distinctive characteristics in the metopic skull configuration applying data mining techniques. *7th International Conference on Radiation in Various Fields of Research – Herceg Novi, Montenegro, June 10-14, 2019*
23. Nikolova S., Toneva D. Application of industrial CT for investigation of the cranial suture microstructure. *10th Workshop Experimental Models and Methods in Biomedical Research – Sofia, Bulgaria, July 3-5, 2019*
24. Dandov A., Nikolova S., Toneva D., Lazarov N., Zlatareva D. Virtual anthropology – an interdisciplinary technique for studies in the field of biomedicine. *73^o Congresso Nazionale Società Italiana di Anatomia ed Istologia – Napoli, Italy, September 22-24, 2019*
25. Kamenov D., Harizanov S., Nikolova S., Toneva D. Increasing the Resolution and Readability of Digital Images. *14th Annual Meeting of the Bulgarian Section of SIAM – Sofia, Bulgaria, December 17-19 2019*
26. Nikolova S., Toneva D., Agre G., Lazarov N. Computed tomography: a non-destructive method for investigation of bone tissue structure. *8th International Conference on Radiation in Various Fields of Research – Herceg Novi, Montenegro (on-line), July 20-24, 2020*
27. Nikolova S. Application of μ CT for investigation of dry bones. *Workshop on 3D digitisation, data processing and applications – Nessebar, Bulgaria, September 8-11, 2020*
28. Nikolova S., Toneva D. A case of atlas assimilation in a metopic skull. *XXV National Congress of the Bulgarian Anatomical Society with International Participation – Pleven, Bulgaria, May 27-30, 2021*

29. Toneva D., Nikolova S. Generation of three-dimensional images of skulls with anatomical variations. *XXV National Congress of the Bulgarian Anatomical Society with International Participation – Pleven, Bulgaria, May 27-30, 2021*
30. Toneva D., Nikolova S., Harizanov S., Zhelev I. Applied Mathematics for Forensic Medicine. *Mathematics of Life 2021 – Hisarya, Bulgaria, September 13-16, 2021*
31. Nikolova S., Toneva D., Agre G. Reliability of age-at-death estimation based on the sagittal suture maturation in metopic skulls. *11th Congress of International Society of Forensic Radiology and Imaging (ISFRI 2022) – Tokyo, Japan (on-line), May 12-14, 2022*
32. Nikolova S., Toneva D. Visualization and investigation of paranasal sinuses via CT imaging. *10th Jubilee International Conference on Radiation in Various Fields of Research (Jubilee RAD 2022 Conference - Spring Edition) - Herceg Novi, Montenegro, June 13-17, 2022*
33. Koprinkova-Hristova, P., Georgiev, I., Nikolova, S., Toneva, D. Echo State Network for Features Extraction and Segmentation of Tomography Images. *10th International Conference on Numerical Methods and Applications - Borovets, Bulgaria, August 22-26, 2022*
34. Nikolova S., Toneva D., Frequency of interclinoid bridging in Bulgarians. *116th Annual Meeting of the Anatomische Gesellschaft, September 20-23, 2022*
35. Nikolova S., Toneva D., Zlatareva D. Bilateral and sex distribution of pterygospinous bridge in Bulgarians. *11th International Conference on Radiation, Natural Sciences, Medicine, Engineering, Technology and Ecology - Herceg Novi, Montenegro, June 19-23, 2023*

SUMMARY

BIOMEDICAL ASPECTS OF CRANIAL SUTURES: MICROSTRUCTURE, PHYSIOLOGICAL CLOSURE, METOPISM

Silviya Nikolova, PhD

The aim of this work is to investigate the microstructure and physiological closure of the cranial sutures and to evaluate the peculiarities of cranial morphology in *metopism*.

Our observations on the structure of the cranial sutures at different stages of obliteration in dry skulls have confirmed that the open (functioning) suture is characterized by a relatively large gap between the compact bone edges of the adjacent cranial bones. During the process of closure, the suture undergoes reorganization of the microarchitecture, which eventually leads to its obliteration. The remodeled sutural area follows the 3-layered pattern of organization typical of the flat cranial bones. Generally, the sagittal suture closure progresses from the inner table through the diploe to the external table; however, the process is irregular and could be initiated at each of the three bone layers. Moreover, the closure of the sagittal suture begins and spreads simultaneously along the entire suture length, which indicates that there is no specific point or area of initiation.

Based on the observed changes in the suture microarchitecture during closure, we have developed an original descriptive scale for scoring the contact between the bone edges at the level of each of the bone layers. The scale allows us to precisely assess the degree of sagittal suture closure in cross-sectional tomograms. Thus, considering the closure of the sagittal suture in individuals with a known age at death, we have established that there is a positive, although weak, correlation between the closure of the suture and the individual's age. This finding confirms that suture closure is not solely a function of aging, and the factors initiating and managing this process are heterogeneous and complex. Nevertheless, we have developed regression models for age-at-death prediction based on the degree of sagittal suture closure using machine learning algorithms. We have found that the most accurate models are those learned from the dataset that describe the examples only by the degree of closure of the external table along the sagittal suture length. The addition of other attributes worsens the predictive ability of the learned models. These results clearly demonstrate that sagittal suture closure is not a reliable age-at-death indicator and should be used only as a supportive method in osteological expertise.

We have provided original evidence that the sagittal suture closure in the metopic crania is significantly delayed compared to that in the non-metopic ones. This suggests that the factors maintaining the metopic suture patency are not local but also affect the closure of the other calvarial sutures. Moreover, the elaborated linear regression models have demonstrated that the error in the age-at-death prediction for the metopic crania is almost two times bigger than that for the non-metopic ones. This clearly indicates that in individuals with *metopism*, there is no link between sagittal suture closure and aging.

We have performed comparative morphometric analyses between the metopic and non-metopic cranial series. Studies of the nasofrontal and orbital regions have demonstrated that they are significantly modified in *metopism*. We have found that the considerable differences in the nasofrontal region are mainly related to the nasal bones, which are shorter and wider in the metopic series. A comparative angular characteristic of this region has also shown that the metopic crania have significantly flattened glabella with shorter and less prominent nasal bones. There are no significant differences in the orbital dimensions or area between the series. The larger biorbital width in the metopic crania is related to a significantly greater interorbital distance, which in turn is a precondition for a wider nasal bridge.

In order to select the most distinctive features between the series, we have described the crania by quantitative (metric) and qualitative (anatomic variation) features (attributes) and have applied data mining algorithms to the collected data. The most accurate model for classifying a cranium as metopic or non-metopic turns out to be a decision tree based on four quantitative features of the frontal bone. This model reaches a classification accuracy of 83%. We have also applied geometric morphometric approaches to compare the size and shape of the metopic and non-metopic crania as independent components. Our results have demonstrated that there are significant size differences only in the neurocranium, but not considering it as a whole entity; rather, the differences are in the neurocranium segments, i.e., they are regional and reflect a size redistribution between the segments. Thus, in metopic crania, the size of the frontal part is significantly increased, but at the expense of the middle (parieto-temporal) and occipital parts, which are considerably reduced. At the same time, the total size of the neurocranium between the metopic and non-metopic crania does not differ significantly. Considering the shape, our results have shown that it differs significantly between the metopic and control series in all landmark configurations. The difference is greater in the parieto-temporal segment, while in the occipital one, the variation in shape is significantly influenced by size. In general, the shape modification in the metopic series reflects a mediolateral widening and an anteroposterior shortening, which contributes to a globular outline of the

neurocranium in *metopism*. Our results have demonstrated that despite the close interrelation between the development of the cranial vault and base, the metopic suture persistence, linked to a specific configuration of the vault, is not related to significant changes in the angulation of the base, measured by the cranial base angle.

Our original results have provided evidence that metopic suture persistence is associated with reduced pneumatization of the frontal sinus in the vertical part of the frontal bone. Bilateral aplasia of the frontal sinus is less common than unilateral aplasia, which in turn is predominantly right-sided. At the same time, our results have also demonstrated that the pneumatization of the frontal sinus is a spatially coordinated process that progresses proportionally in the vertical and horizontal parts of the frontal bone. Thus, the reduced pneumatization in the vertical part of the frontal bone in the metopic series is not compensated by a greater pneumatization in the horizontal part.

In our studies, we have observed that metopic skulls often demonstrate supernumerary calvarial bones, formed either by fragmentation of the normal ossification centers or by the emergence of additional ones in the cranial sutures and fontanelles. We have also found that the additional bones in the occipital region are not related to specific changes in the shape and size of the neurocranium. *Metopism*, in turn, has a significant impact on the overall morphology of the neurocranium, which is intensified by the presence of variations in the occipital region.

In summary, our results have provided considerable evidence that *metopism* is associated with a specific configuration of the cranial vault, delayed closure of the major sutures, the presence of supernumerary bones, and the underdevelopment of the frontal sinus. The combination of these features could be considered a sign of a generalized disturbance in the intramembranous ossification, which is overexpressed in some types of skeletal dysplasia. Consequently, it is important to consider *metopism* as a manifestation of an ossification disturbance, which could vary from a combination of "innocuous" variations to skeletal dysplasia. A further use of experimental models and data from clinical practice could contribute to understanding the etiology of *metopism*, including the boundaries between "innocuous" variations and pathology. The use of high-resolution 3D imaging, artificial intelligence, and mathematical modeling contributes significantly to data collection, analysis, interpretation, and elaboration of models, which are important steps in understanding cranial suture biology.