

**NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 22.12.2017. godine, broj 5940/14, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

**“ ZNAČAJ KLINIČKO-PATOLOŠKIH PREDIKTORA ZA PRISUSTVO
METASTAZA U STRAŽARSKIM (SENTINEL) LIMFNIM ČVOROVIMA KOD
OBOLELIH OD MELANOMA KOŽE „**

kandidata Mr sci. dr Stevan Jokić, zaposlen na Institutu za radiologiju i onkologiju u Beogradu. Mentor je Doc. dr Ivan Marković, komentor je Prof. dr Danijela Dobrosavljević.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Radan Džodić, profesor Medicinskog Fakulteta u Beogradu
2. Prof. dr Miroslav Granić, profesor, Medicinskog Fakulteta u Beogradu
3. Doc. dr Milan Petrović, docent Stomatološkog fakulteta u Beogradu

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

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija mr sci. dr Stevana Jokića napisana je na 96 strane i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi istraživanja, ispitanici i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. Rad sadži ukupno 46 priloga i to: 2 slike, 12 tabela i 32 grafikona. Na kraju disertacije dat je pregled citirane literature u vidu 139 literaturnih podataka.

Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

Uvod je kroz sedam segmenata podeljenih na nekoliko logičkih celina. U prvom segmentu detaljno je opisan istorijat i epidemilogija melanoma sa posebnim akcentom na ulogu identifikacije stražarskog limfnog čvora (sentinela). U drugom delu obrađena je etilogija melanoma, genetska sklonost i faktori okoline, od kojih je najznačajniji izloženost UV zračenju od sunčeve svetlosti. U trećem segmentu Uvoda dr Jokić detaljno opisuje biologiju melanoma, sa posebnim akcentom na vezu aktiviranih signalnih puteva u cilju razumevanja mehanizma invazivnosti i metastaziranja melanoma. U četvrtom delu Uvoda opisana je dijagnostika melanoma, dat je detaljan pregled dijagnostičkih procedura korišćenih u dijagnozi melanoma. U petom odeljku posebna pažnja je posvećena klasifikaciji i prognostičkim faktorima melanoma, dok je u šestom delu obrađena terapija melanoma. Hirurgija kao glavni vid lečenja melanoma, je detaljno opisana. u ovom segmentu, Poslednji, sedmi deo Uvoda se bavi praćenjem pacijenata nakon operacije melanoma kože.

Da bi se, makar delimično, rasvetlio značaj kliničko-patoloških prediktora za prisustvo metastaza u stražarskim (sentinel) limfnim čvorovima kod obolelih od melanoma kože dr Stevan Jokić je postavio sledeće **Ciljeve rada**:

- Glavni cilj ovog istraživanja je da se utvrde klinički prediktori kod pacijenata i klinički i patohistološki prediktori primarnog melanoma za prisustvo patohistološki verifikovanih metastaza u stražarskim (sentinel) limfnim čvorovima kod pacijenata sa melanomom kože i sa tankim melanomom kože po staroj (≤ 1 mm) i novoj klasifikaciji ($\leq 0,8$ mm).

Pored toga, dr Jokić je postavio i dodatne ciljeve:

- Da se prikažu demografske karakteristike pacijenata (uzrast, pol i lokalizacija tumora) i patohistološki parametri primarnog melanoma kože (prisustvo ulceracije, mitotski indeks, nivo po Klarku i Breslovu, prisustvo regresije i limfovaskularne invazije) kod pacijenata sa melanoma kože

- Da se prikažu demografske karakteristike pacijenata (uzrast, pol i lokalizacija tumora) i patohistološki parametri primarnog melanoma kože (prisustvo ulceracije, mitotski indeks, nivo po Klarku i Breslovu, prisustvo regresije i limfovaskularne invazije) u grupi pacijenata sa tankim melanomom kože po staroj (≤ 1 mm) i novoj klasifikaciji ($\leq 0,8$ mm).
- Da se utvrde najznačajniji prediktivni parametri za prisustvo metastaza u stražarskom (sentinel) limfnom čvoru kod pacijenata sa melanomom kože.
- Da se analizira ROC kriva debljine melanoma po Breslovu i identifikacije patohistološki verifikovanih pozitivnih sentinel limfnih čvorova
- Da se prikaže vreme do pojave lokalnog i/ili udaljenog relapsa bolesti pacijenata sa melanomom u odnosu na patohistološki status stražarskih limfnih čvorova i poznatih prediktora (uzrast, pol i lokalizacija tumora, prisustvo ulceracije, mitotski indeks, nivo po Klarku, prisustvo regresije i limfovaskularne invazije) u periodu praćenja.

U poglavlju **Ispitanici i metode** detaljno je opisana retrospektivna/prospektivna u koju je bilo uključeno 148 pacijenata prosečne starosti $53,9 \pm 15,1$ godina obolelih od melanoma kože (49% muškaraca, 51% žena) stadijuma I i II kod kojih je urađen biopsija stražarskog limfnog čvora lokoregionalnih limfatika. Pacijenti hirurški lečeni na Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije u Beogradu su regrutovani u periodu od januara 2014. do decembra 2017. Jasno su definisani kriterijumi uključivanja i isključivanja pacijenta u studiju. Za određivanje značaja u predikciji pozitivnih sentinel limfnih čvorova analizirane su sledeće kliničko-patohistološke karakteristike pacijenata: uzrast (do 40 godina, preko 40 godina starosti), pol, lokalizacija tumora (ekstremiteti, trup, glava i vrat), patohistološki parametri primarnog melanoma kože debljina u milimetrima (Breslov), prisustvo ulceracije, mitotski indeks, nivo po Klarku, prisustvo regresije, prisustvo limfovaskularne invazije. Svi pacijenti su dijagnostikovani i lečeni prema postojećem protokolu za dijagnostiku i lečenje melanoma kože, modifikovanom sa najnovijim preporukama za biopsija stražarskog limfnog čvora AJCC od 2010. godine. Dijagnostika podrazumeva klinički pregled, ultrasonografiju

abdomena i male karlice, rtg. pluća, laboratorijske analize krvi sa akcentom na hepatogram, kao i nalaz interniste kardiologa kao preoperativni zaključak, a kod pacijenata iz studije su rađeni još i limfoscintigrafija nanokoloidom Tc99m i injiciranje vitalne boje, metilen-plavo, pojedinačno ili kao kombinacije dve metode radi određivanja klinički ne palpabilnih regionalnih limfnih čvorova u aksili ili ingvinumu, kao prvih koji primaju metastazu iz primarnog tumora što određuje dalji tok lečenja. Studija je planirana u skladu sa etičkim standardima datim u Helsinškoj deklaraciji i u skladu sa pravilima Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu.

U poglavlju **Rezultati** detaljno su izneti i veoma jasno, tabelarno i grafički, predstavljeni svi dobijeni rezultati.

Diskusija je napisana jasno i pregledno. Dobijeni rezultati su detaljno analizirani i upoređeni sa relevantnim podacima iz literature. Svi rezultati su veoma pažljivo interpretirani, uz prepoznavanje ograničenja studije.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada i diskusije. Korišćena **literatura** sadrži spisak od 135 reference.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Rezultati doktorske teze dr Stevana Jokića su pokazali da je prisustvo metastaza u stražarskim limfnim čvorovima bilo značajno povezano sa debljinom po Breslovu i Klarku, prisustvo ulceracija i visokim mitotskim indeksom. Naime, pacijenti sa debljinom po Breslovu $>0,8$ mm su imali 2,4 veći rizik za prisustvo metastaza u stražarskom limfnom čvoru nego oni koji imaju debljinu po Breslovu $\leq 0,8$ mm. Takođe, pacijenti sa debljinom po Klarku nivo 5 imali su 2,2 veći rizik za prisustvo metastaza u stražarskom limfnom čvoru nego oni koji imaju debljinu po Klarku nivo 1. S druge strane, prisustvo ulceracije povećava rizik od metastaza u stražarskom limfnom čvoru oko 9 puta, dok visok mitotski indeks (>6 /mm²) povećava rizik od metastaza u stražarskom limfnom čvoru oko 8 puta. Dobijeni rezultati pokazuju da je pojava prvog relapsa bolesti bila povezana sa muškim polom, debljinom po Breslovu, prisustvom ulceracije i mitotskim indeksom. Naime, postoji statistički značajna

razlika u vremenu pojave prvog relapsa između muškaraca i žena. Pored toga, pojava prvog relapsa kod pacijenata sa debljinom po Breslovu do 0,8 mm je iznosila 36,7 meseci, dok je kod pacijenata sa debljinom po Breslovu više od 0,8 mm bilo 29,4 meseca. Takođe, postojala je statistički značajna razlika u vremenu pojave prvog relapsa kod pacijenata sa melanomom sa i bez ulceracije. Pacijenti sa melanomom koji imaju visok mitotski indeks ($>6 /\text{mm}^2$) imali su 22,4 meseca do pojave prvog relapsa bolesti, dok su oni sa nižim mitotskim indeksom imali 36 meseci do ponovne pojave bolesti. Međurim, ova razlika nije i statistički značajna. Dobijeni rezultati u multivarijantnom COX regresionom modelu su pokazali da je varijabla koja je povezana sa povećanim hazardom za pojavu relapsa je pozitivan stražarski limfni čvor. Na osnovu analize ROC krive optimalna vrednost praga debljine melanoma po Breslovu za detekciju pozitivnosti sentinel limfnih čvorova iznosi 2,9 mm.

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Prediktori metastaza u sentinel limfnim čvorovima su u fokusu mnogih istraživačkih grupa već duže vreme. Prema American AJCC-a, Breslov debljina, ulceracije i metastaze u stražarskim limfnim čvorovima smatraju se najvažnijim prognostičkim faktorima kod pacijenata sa melanomom (Kruher LL i sar., 2006, Wong SL i sar., 2012), dok se mitotski indeks (MI) prepoznaje samo kao prognostički faktor u podgrupi tankih melanoma. Kruper L. i saradnici su ispitivali vezu SLN pozitivnosti i kliničkih karakteristika u svojoj studiji koja je obuhvatila 682 pacijenata sa melanomom, bez kliničkih dokaza metastatske bolesti. Metodom logističke regresije je ispitivana veza između SLN pozitivnosti i debljine po Breslovu i Klarku, prisustvu ulceracije, mitotskim indeksom, polu i starosti pacijenata. U multivarijantnoj analizi ova istraživačka grupa je utvrdila da su MI (svi pacijenti sa pozitivnim SLN-ima imali su $MI > 0$) i debljina po Breslovu nezavisni prognostički faktori za SLN pozitivnost. Rezultati ove doktorske teze pokazuju da su debljina po Breslovu i Klarku, mitotski indeks i prisustvo ulceracije značajni nezavisni prediktori metastaza u sentinel limfnim čvorovima. Pored toga, Kruper L i sar. su pokazali da pacijenti sa $MI > 0$ i debljinom tumora $\geq 0,76$ mm su bili identifikovani kao grupa sa većim rizikom i stopom pozitivnih SLN

od 12,3%. U ovom doktorskom radu detektovana je ukupna stopa pozitivnosti stražarskog limfnog čvora kod 10% pacijenata, što je malo niže u odnosu na prijavljenu stopu od 13 do 25% drugih autora (Berk DR i sar., 2005). Naime, Kesmodel i sar. su prijavili da 88 od 682 pacijenata imalo je 1 pozitivan SLN (12,9%). Studija Berka i saradnika je pokazala da su pozitivni SLN otkriveni u 39 (15%) od 260 slučajeva, uključujući 0 (0%) od 45 za kožne melanome 1,0 mm debljine ili manje (T1), 21 (18%) od 115 za melanome debljine od 1,01 do 2,0 mm (T2), 12 (19%) od 64 za melanome od 2,01 do 4,0 mm debljine (T3) i 5 (16%) od 32 za melanome debljine od 4,0 mm (T4). Stopa PSM (*proportion successfully mapped, PSM*) uspeha za biopsije stražarskog limfnog čvora (procenat pacijenata koji su uspešno mapirani) u ovom doktoratu bila je 98%, što odgovara rezultatima sličnih serija i ukupnim prijavljenim stopama uspeha za biopsije od 98% (opseg 87-100%) (Wong SL i sar., 2012). Rezultati ove disertacije o povezanosti kliničkih karakteristika i SLN pozitivnosti su vrlo slični sa rezultatima dobijenim u studijama Tejera-Vaquerizo i saradnika (Tejera-Vaquerizo A. i sar., 2015) i Konofaosa i saradnika (Konofaos P. i sar., 2014). Naime, grupa Tejera-Vaquerizo i sar. je takođe pokazali da su ulceracija, debljina tumora i visoki mitotski indeks nezavisno povezani sa prisustvom metastaza u stražarskom limfnom čvoru (Tejera-Vaquerizo A. i sar., 2015). U multivarijantnoj regresionoj analizi kod ove grupe istraživača najvažniji prediktor bila je debljina po Breslovu. Odsustvo inflamatornog infiltrata, starost pacijenata i lokalizacija tumora su bili prediktivni za SN metastazu kod pacijenata sa tumorima debljim od 2 mm. U slučaju tanjih melanoma Tejera-Vaquerizo i saradnici su kao prediktori SNL dobili mitotski indeks (> 6 mitoza / mm²), prisustvo ulceracije i debljinu tumora. Da li radikalna disekcija regionalnih limfatika nakon pozitivne biopsije SLČ poboljšava preživljavanje, bila je predmet multicentričnih selektivnih studija I i II (*Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial, MSLT I i II*). (Morton DL. i sar., 2014,; Faries i sar., 2017). Rezultati prve velike internacionalne, multicentrične, prospektivne, randomizovane studije o selektivnim limfadenektomijama kod melanoma (Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial, MSLT) (Morton DL. i sar., 2005; Morton DL. i sar., 2006; Morton DL. i sar., 2014) ukazali su na značaj rane nodalne evaluacije i lečenja, obzirom da je patohistološki status sentinel limfnih nodusa bio najvažniji prognostički faktor i da su oni pacijenti kod kojih je učinjena SLČB imali manje recidiva, nego oni koji su tretirani samo širokom ekscizijom primarnog tumora,

uz dalju observaciju limfnih nodusa. Kod pacijenata sa melanomima srednje debljine (definirano u MSLT-I kao debljina primarnog tumora 1.2-3.5mm) i nodalnim metastazama, rano hirurško lečenje ovih metastaza, vođeno SLČB, bilo je povezano sa boljim preživljavanjem specifičnim za bolest (definirano u MSLT-I kao preživljavanje do smrtnog ishoda od melanoma). Rezultati ove prve MSLT studije bili su osnova za preporuke referentnih onkoloških udruženja (Wong SL. i sar. 2012; Garbe C. i sar., 2002; Coit DG. i sar., 2016) da se SLČB primeni za stažiranje limfnih nodusa, kada je to moguće. U nastavku MSLT, autori su analizirali klinički benefit od limfonodalnih disekcija kod pacijenata sa melanomom i metastazama u sentinel limfnim nodusima, u odnosu na ultrazvučno praćenje i disekciju samo kod onih pacijenata kod kojih se klinički verifikuje recidiv nodalne bolesti (Faries i sar., 2017). Rezultati MSLT-II su, nasuprot rezultatima MSLT-I, pokazali da kompletiranje disekcije kod pozitivnih sentinela (disekciona grupa) nije bilo povezano sa boljim preživljavanjem specifičnim za bolest u odnosu na praćenje takvih pacijenata (observaciona grupa), iako je stopa preživljavanja bez znakova bolesti nakon 3 godine bila neznatno veća u disekcionoj, u odnosu na observacionu grupu. Sa druge strane, metastaze izvan sentinel limfnih nodusa, koje su verifikovane kod 11.5% pacijenata disekcione grupe, bile su nezavistan prognostički faktor za recidiv bolesti. Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima naše studije. Naime, najvažnija varijabla koja je povezana sa povećanim rizikom za relaps bolesti u našoj studiji je SLČ pozitivnost. Pored toga, u ovom doktorskom radu određivana je optimalna vrednost praga debljine melanoma po Breslovu za detekciju pozitivnosti sentinel limfnih čvorova pomoću ROC krive i ona je iznosila 2,9 mm. Rezultati različitih studija su pokazali niže granične vrednosti (1,23; 1,50 i 1,8 mm) (Kesmodel SB. i sar., 2005, Sartore L. i sar., 2008). Pored toga, u ovom doktorskom radu analizirana je i asocijacija ovih prognostičkih faktora sa ponovnom pojavom melanoma. Iako je prosečno vreme do prvog ponavljanja bilo 32 meseca, značajno kraći period bez relapsa bolesti bio je kod muškaraca. Ovi rezultati su u saglasnosti sa studijom Joosse A i sar., (Joosse A i sar., 2013) koji su se u svom istraživanju bavili proučavanjem u preživljavanju i progresiji bolesti kod muškaraca i žena sa metastatskim melanomom III i IV stepena. Rezultati ove studije su pokazali da su žene imale bolju 5-godišnju stopu preživljavanja u poređenju sa muškarcima. Pored toga, ovaj doktorski rad pokazuje da su debljina po Breslovu i prisustvo ulceracije

najvažnijim prediktorima relapsa bolesti. S druge strane, starost i anatomska lokalizacija melonama kod pacijenta u ovom istraživanju nisu bili statistički značajno povezani sa prisustvom metastaza u stražarskom limfnom čvoru i recidivom bolesti. Ipak, najkraće vreme za pojavu recidiva u ovoj studiji, koje je primećeno u slučaju anatomske lokalizacije na glavi, vratu i trupu, potvrdili su i drugi autori (Lee DY i sar., 2016). Zaista, ovi nalazi su biološki prihvatljivi, jer je kraće vreme bez bolesti i ukupno preživljavanje u slučaju lokalizacije na glavi, vratu i trupu melanoma mogu biti posledica povećane vaskularizacije ovih tumora. Pored toga, složenost limfnog sistema na nivou glave i vrata izgleda da povećava verovatnoću hematogene metastaze (Lin D i sar. 2006).

D) Objavljeni rad koji čini deo doktorske disertacije

1. Jokic S, Markovic I, Bukumiric Z, Jokic V, Rakovic M, Tripkovic J, Stojiljkovic D, Spurnic I, Jevric M, Matic M, Dobrosavljevic D. Predictors of sentinel lymph node status of cutaneous melanoma in Serbian patients. J BUON, 2018; 23 (2):468-474.

E. Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija “ZNAČAJ KLINIČKO-PATOLOŠKIH PREDIKTORA ZA PRISUSTVO METASTAZA U STRAŽARSKIM (SENTINEL) LIMFNIM ČVOROVIMA KOD OBOLELIH OD MELANOMA KOŽE” dr Stevana Jokića predstavlja originalni naučni doprinos u istraživanjima koja se odnose na potencijalne kliničko-patološke prediktore za prisustvo metastaza u stražarskim (sentinel) limfnim čvorovima kod obolelih od melanoma kože. Ovim istraživanjem pokazano je da su debljina melanoma po Breslovu i Klarku, prisustvo ulceracije i visok mitotski indeks glavni prediktori metastaza u stražarskim limfnim čvorovima kod pacijenata sa kožnim melanomom. Pored toga, ovaj doktorski rad pokazuje da su debljina po Breslovu i prisustvo ulceracije najvažniji prediktori za pojavu relapsa bolesti. Dobijeni rezultati mogu biti uvod u dalja longitudinalna istraživanja o značaju kliničko-patoloških prediktora metastaza kod pacijenata obolelih od melanoma.

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

Na osnovu svega navedenog, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Stevana Jokića i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 05.07.2018.

ČLANOVI KOMISIJE:

Prof. dr Radan Džodić, predsednik

Prof. dr Miroslav Granić

Doc. dr. Milan Petrović

Mentor:

Doc. dr Ivan Marković

Komentor:

Prof. dr Danijela Dobrosavljević
