

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRDU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 21.05.2018. godine, broj 5940/16, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom „**Evaluacija morfoloških parametara tumora muskuloskeletnog sistema pre i nakon neoadjuvantne hemioterapije primenom tehnika magnetne rezonance**“ kandidata mr sc. med. dr Predraga Ćirkovića, zaposlenog u Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije. Mentor je prof. dr Ružica Maksimović.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Zorica Milošević, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
2. Prof. dr Jelena Sopta, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Miloš Mojović, profesor na Fakultetu za fizičku hemiju Univerziteta 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 doktorke disertacije

Doktorska disertacija mr sc. med. dr Predraga Ćirkovića napisana je na ukupno 94 strane i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 24 tabele, 11 grafikona i 8 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

U **uvodu** je navedena etiologija i biološko ponašanje muskuloskeletnih tumora. Navedena je detaljna klasifikacija muskuloskeletnih tumora na osnovu morfoloških i patohistoloških karakteristika. Na adekvatan način je u potpunosti opisan algoritam dijagnostike ovog tipa tumora, uključujući anamnezu, fizikalni nalaz, biohemijska ispitivanja, patohistološku verifikaciju, histološko i biološko određivanje gradusa, kao i sisteme određivanja stadijuma muskuloskeletnih tumora.

Takođe je prikazan detaljan osvrt na vizualizacionu dijagnostiku ovih tumora, koja podrazumeva primenu radiografije, scintigrafije, pozitronske emisione tomografije, ultrazvuka, kompjuterizovane tomografije i magnetne rezonancije. Posebno je naglašen značaj magnetne rezonancije u evaluaciji brojnih patoških stanja muskuloskeletnog sistema, posebno tumora, uz isticanje protonske MR spektroskopije, koja predstavlja naprednu tehniku i omogućava molekularnu karakterizaciju tumora muskuloskeletnog sistema.

Ciljevi rada su precizno definisani. Sastoje se od istraživanja evaluacija pouzdanosti MR spektroskopije u proceni terapijskog odgovora muskuloskeletnih tumora zasnovana na korelaciji nalaza MR spektroskopije sa patohistološkim nalazima. Takođe kao cilj rada navedena je i evaluacija značaja promene volumena muskuloskeletnih tumora u proceni terapijskog odgovora, takođe, zasnovana na korelaciji sa patohistološkim nalazima.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o prospektivnoj studiji koja je sprovedena u Klinici za radiološku onkologiju i dijagnostiku Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije. Detaljno je opisan način izvođenja standardnih MR pregleda i protonske MR spektroskopije, kao i način dobijanja zapremine tumora volumetrijom. U studiju su uključeni pacijenti sa novootkrivenim malignim tumorima muskuloskeletnog sistema kod kojih nije započeta hemioterapija. Pregledi su rađeni pre započinjanja hemioterapije i posle sprovedenih tri ili četiri ciklusa hemioterapije, na osnovu ESMO preporuka za sprovođenje neoadjuvantne hemioterapije. Ova studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Volumetrija je rađena u 3D aplikaciji Carestream PACS-a verzija 12.0.0.5756, dok je protonski MR spektar obrađivan LC modelom, na osnovu čega je izračunavana koncentracija holina.

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

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

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 110 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Među obrađivanim muskuloskeletnim tumorima najčešći su bili osteosarkomi (20 pacijenata), zatim Ewing sarkomi (14), a za njima slede ekstraskeletni Ewing sarkom (2), alveolarni

rabdomiosarkom (2), dediferentovani hondrosarkom (1), atipični teratoidni/rabdoidni tumor (1), maligni švanom (1) i atipični soft-part sarkom (1). Najzastupljenija anatomska lokalizacija muskuleskeletnih tumora je bila natkolenica (20 pacijenata), zatim potkolenica (9), nadlaktica (5), rameni pojas (4), dok su najređe lokalizacije u ovoj studiji bile podlaktica (2) i karlična regija (2). Među kostima najčešće je bio zahvaćen femur (18 pacijenata), zatim tibija (5), fibula (3), pa humerus (4), skapula (2) i klavikula (2), dok su radijus (1) i sakrum (1) bili najređe mesto ishodišta tumora. Volumetrijski određene zapremine tumora pre neoadjuvantne hemioterapije kretale su se od 26,85 cm³ do 2819,54 cm³, dok su se volumetrijski određene zapremine tumora na posterapijskim odnosno preoperativnim pregledima, kretale od 11,86 cm³ do 2685,29 cm³. Koncentracije holina koje su dobijene obradom protonskog MR spektra LC modelom pre neoadjuvantne hemioterapije kretale su se od 1,9 mmol/kg do 7,2 mmol/kg, dok su se koncentracije holina registrovane na posterapijskim odnosno preoperativnim pregledima, kretale od 0,5 mmol/kg do 5,3 mmol/kg. Na osnovu histoloških kriterijuma Huvos-ove klasifikacije procenta tumorske nekroze nakon neoadjuvantne hemiterapije, pacijenti su svrstani u dve grupe, sa dobrim i lošim odgovorom na primenjenu hemioterapiju. U grupu sa dobrim tumorskim odgovorom svrstano je 29 pacijenata, dok se u grupi sa lošim odgovorom nalazi 13 pacijenata. Procenat promene zapremine tumora u gupi sa dobrim odgovorom na primenjenu hemioterapiju se menjao u smislu smanjivanja zapremine u intervalu od 46% do 82%, dok se procenat promene zapremine tumora u grupi sa lošim odgovorom menjao u intervalu od smanjenja zapremine tumora koje je maksimalno iznosilo 51% do povećanja zapremine tumora koje je maksimalno iznosilo 12%. Procenat promene koncentracije holina u grupi sa dobrim odgovorom na primenjenu hemioterapiju se menjao u smislu smanjivanja koncentracije holina u intervalu od 45% do 90%. Sa druge strane, procenat promene koncentracije holina u grupi sa lošim odgovorom na primenjenu hemioterapiju menjao se u intervalu od smanjenja koncentracije holina koje je bilo maksimalano 14% do povećanja koncentracije holina koje je maksimalno dobijena 45%. Procenti promene zapremine tumora i promene koncentracije holina su razvrstani takođe u dve grupe, tako da su pacijenti podeljeni na taj način da su ovi procenti izvedeni iz standardnog MR pregleda i protonske MR spektroskopije vezani za pacijenta koji se nalazi u grupi sa lošim ili dobrim odgovorom. Poređenjem procenta promene zapremine sa histološkim procentom nekroze, korišćenjem Spearman-ovog ranga koeficijenta korelacije u grupi sa lošim tumorskim odgovorom, dobijena je statistički značajna negativna korelacija ($p=0,014$), dok se u istoj grupi javila visoko statistički značajna negativna korelacija, ali poređenjem procenta promene koncentracije holina sa histološkim procentom nekroze

($p=0,000$). Sa druge strane, poređenjem procenta promene zapremine sa histološkim procentom nekroze, korišćenjem Spearman-ovog ranga koeficijenta korelacije u grupi sa dobrim tumorskim odgovorom, nije dobijena statistički značajna korelacija ($p=0,104$), dok je u istoj grupi, ali poređenjem procenta promene koncentracije holina sa histološkim procentom nekroze dobijena statistički visoko značajna negativna korelacija ($p=0,001$).

C) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Procena terapijskog odgovora na primenjenu hemioterapiju je jedan od najvažnijih aspekata medicinske nege pacijenta, uzimajući u obzir da terapijske mogućnosti i izbor vremena za izvođenje hirurške intervencije zavisi od uspeha primenjene neoadjuvantne hemioterapije. Slab odgovor tumora na primenjenu terapiju zahteva njenu promenu ili prekid, sa konsektivnim hirurškim tretmanom. Pacijenti sa praktično nikakvim ili slabim terapijskim odgovorom čine 30%, što se slaže sa podacima iz literature (Schuetze i sar., 2006, Jaffe i sar., 2008, Stacchiotti i sar., 2009), dok je skoro 70% pacijenata svrstano u grupu sa lošim odgovorom. Rezultati vezani za promenu zapremine tumora koji su dobijeni, ne koreliraju u svemu u poređenju sa histopatološki dobijenim procentom nekroze tumora. Naime, u grupi pacijenata sa lošim odgovorom na primenjenu hemioterapiju dobijeno je statističkom analizom značajno smanjenje zapremine tumora, i pored toga što se u toj grupi nalazi trećina ukupnog broja pacijenata odnosno skoro polovina grupe koji imaju procenjen procenat nekroze ispod 50%. Dalje, poređenjem procenta promene zapremine tumora sa histopatološki određenim procentom nekroze, u grupi sa lošim odgovorom registruje se statistički značajna negativna korelacija, povećan procenat tumorske nekroze odgovara smanjenju zapremine tumora, dok u grupi sa dobrim odgovorom nije registrovana nikakva korelacija. Na osnovu ovih rezultata izvodi se zaključak da se samo na osnovu promene zapremine tumora ne može donositi adekvatna procena terapijskog odgovora na primenjenu neoadjuvantnu hemioterapiju, što je u skladu sa iznetim nalazima nekoliko studija (Amit i sar., 2015, Shin i sar., 2000). Objavljeni su i rezultati studije prema kojima je nađena statistički značajna povezanost između histološkog gradusa i promene zapremine tumora nakon neoadjuvantne hemioterapije (Abudu i sar., 1999). Sa druge strane, postoje i istraživanja koja zaključuju da je promena zapremine tumora praćena reproducibilnim metodom, važan prediktor slobodnog intervala preživljavanja kod pacijenata sa osteosarkomima (Moon i sar., 2005). U ovom istraživanju značajan maksimalan nivo holina je registrovan kod svih pacijenata uključenih u studiju, s tim da je kod svih pacijenata kod kojih je vršena protonska MR spektroskopija dijagnostikovani muskuloskeletni tumor visokog stepena maligniteta. Ovakvi rezultati

koreliraju sa nalazima drugih istraživanja koja su se bavila registrovanjem postojanja značajne visine maksimalnog nivoa holina u zapremini od interesa, a u cilju ispitivanja mogućnosti razlikovanja benignih od malignih tumora (Wang i sar., 2004, Russo i sar., 2012, Costa i sar., 2009, Doganay i sar., 2011, Agarwal i sar., 2014, Fayad i sar., 2006, Qi i sar., 2009). U pomenutim studijama se zaključuje da je moguće razlikovanje benignih od malignih tumora na osnovu prisustva ili odsustva holina sa velikom pouzdanošću, bez obzira na različiti manji procenat lažno pozitivnih ili lažno negativnih nalaza. U najvećem broju slučajeva malignih muskuloskeletnih tumora kod kojih nije registrovano postojanje holina, navedeno je da se radi o dobro diferentovanim tumorima. Do sada je bilo nekoliko pokušaja praćenja promene koncentracije holina tokom primene hemioterapije. Prva studija je sprovedena na uzorku od 9 pacijenata. Autori su zaključili da na osnovu ovih preliminarnih rezultata, promene nivoa holina u regiji spektra mogu da posluže kao rani i senzitivni indikator metaboličkog odgovora na primenjenu hemioterapiju (Schwarz i sar., 2002). Dva veoma slična istraživanja su sproveli Wang i Hsieh sa saradnicima. U oba slučaja uzorak čine 3 pacijenta, ali je urađen veći broj protonskih MR spektroskopskih analiza po pacijentu. Zaključeno je da se rane metaboličke promene posle primenjene hemioterapije mogu identifikovati in vivo protonskom MR spektroskopijom, i da sniženje nivoa holina nakon primenjene hemioterapije kod koštanih tumora i tumora mekih tkiva korelira sa odgovorom dobijenim dinamičkim MR pregledom i veličinom tumora. Na kraju, informacije koje obezbeđuju dinamički MR pregled, kao i protonska MR spektroskopija mogu da poboljšaju dijagnostičku specifičnost MR pregleda vezano za praćenje terapije muskuloskeletnih tumora (Wang i sar., 2005, Hsieh i sar., 2008). I jedna preklinička studija se bavila praćenjem promena koncentracije holina tokom primene hemioterapije. Na osnovu dobijenih rezultata autori navode da neinvazivnim merenjem protonskom MR spektroskopijom nivoa holina in vivo dobija se biomarker tumorskog odgovora na agens ZD6126 kod radijaciono indukovanih fibrosarkoma (Madhu i sar., 2006). Za razliku od prethodno pominjanih, ovo istraživanje je kompletnije. Na prvom mestu, broj pacijenata uključenih u istraživanje je bio značajno veći (42), zatim je izvršena korelacija rezultata istraživanja sa patohistološki ustanovljenim procentom tumorske nekroze nakon sprovedene neoadjuvantne hemioterapije. Statističkom obradom rezultata, kod grupe sa lošim odgovorom na primenjenu hemioterapiju, se dobija visoko značajno povećanje koncentracije holina nakon primenjene terapije, a poređenjem sa histopatološki određenim procentom nekroze registruje se visoko značajna negativna korelacija, što znači manji histopatološki procenat nekroze, uz povećanje koncentracije holina. Sa druge strane, kod grupe sa dobrim odgovorom, statističkom analizom se izdvaja značajno smanjenje koncentracije holina, kao i

visoko značajna negativna korelacija, tako da su visoke vrednosti procenta tumorske nekroze povezane sa značajnim smanjenjem koncentracije holina u tumoru.

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Predrag Ćirković, Jelena Mihailović, Lejla Paripović, Vesna Ilić, Dušan Ristić, Igor Djurišić, Aleksandar Djordjević, Ružica Maksimović. Evaluation of predictive value of 1H MR spectroscopy for response of neoadjuvant chemotherapy in musculoskeletal tumors. JBUON (2018) 23:5.

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Evaluacija morfoloških parametara tumora muskuloskeletnog sistema pre i nakon neoadjuvantne hemioterapije primenom tehnika magnetne rezonance“ mr sc. med. dr Predraga Ćirkovića, kao prvi ovakav rad u našoj populaciji predstavlja originalni naučni doprinos u proceni uloge MR vizualizacije i protonske MR spektroskopije u praćenju terapijskog odgovora muskuloskeletnih tumora. Promene zapremine tumora na primenjenu neoadjuvantnu hemioterapiju ne predstavljaju pouzdan i adekvatan izbor za procenu terapijskog odgovora na primenjenu neoadjuvantnu hemioterapiju. Praćenje promene koncentracije holina posle primenjene hemioterapije može da posluži kao rani i senzitivni indikator metaboličkog odgovora tumora na primenjenu hemioterapiju, a može biti korisno i u proceni efikasnosti hemioterapije. Relativno mali uzorak na kome je sprovedeno ovo ispitivanje zahteva dodatna istraživanja radi potvrde naših rezultata, ali ipak, na kraju, može se reći da protonska MR spektroskopija predstavlja nadu da će se naći parametar procene tumorskog odgovora na sprovedenu neoadjuvantnu hemioterapiju, na koji se neće morati da čeka do hirurškog lečenja.

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

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

U Beogradu, 12.06.2018.

Članovi Komisije:

Mentor:

Prof. dr Zorica Milošević

Prof. dr Ružica Maksimović

Prof. dr Jelena Sopta

Prof. dr Miloš Mojović