

Оцену готове докторске тезе,  
доставља,-

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ

ФАКУЛТЕТА ВОЈНОМЕДИЦИНСКЕ АКАДЕМИЈЕ

На 31. Седници Наставно-научног већа ВМА, одржаној 25.06.2015. год. одређена је комисија у саставу; пк проф. др Јефта Козарски, Медицински факултет Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду; ВС проф. др Дара Стефановић, Медицински факултет Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду; ВС проф др Жељка Татомировић, Медицински факултет Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду; ВС доц. др Љиљана Јауковић, Медицински факултет Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду и проф. др Предраг Ковачевић, Медицински факултет Универзитета у Нишу.

за оцену готове докторске тезе ппук асист. мр сц мед Горана Шијана из Клинике за пластичну хирургију и опекотине ВМА чија тема гласи: **„ВАЛИДНОСТ УЛТРАЗВУЧНО ВОЂЕНЕ АСПИРАЦИЈЕ ТАНКОМ ИГЛОМ У ДИЈАГНОСТИЦИ МИКРОМЕТАСТАЗА У ЛИМФНИМ ЧВОРОВИМА СТРАЖАРИМА У ОБОЛЕЛИХ ОД МЕЛАНОМА КОЖЕ „**

Након увида у достављени материјал и разговора са кандидатом, комисија доставља следећи

## ИЗВЕШТАЈ

### 1. Приказ садржаја докторске дисертације

Докторска дисертација је написана на 73 стране и подељена на следећа поглавља: Увод 28 страна, Хипотеза и циљеви истраживања 2 стране, Методе истраживања 6 страна, Резултати 26 страна, Дискусија 5 страна, Закључци 1 страна и Литература 5 страна. Резултати су документовани са 35 табела и 55 слика. У раду је цитирано 59 радова. Наведена литература је релевантна и обухвата најзначајније радове светских и домаћих аутора који се односе на ову тему.

### 2. Увод, хипотеза и циљеви истраживања

Тема истраживања овог рада је утврђивање значајности ултразвучно вођене аспирације танком иглом (УЗ вођена АТИ) у дијагностици микрометастаза у лимфним чворовима стражарима (ЛЧС).

У Уводу кандидат наводи досадашња сазнања за дијагностику примарног меланом и лимфних чворова стражара: клиничку и патохистолошку (ПХ). Клиничка дијагностика примарног меланом подразумева клинички и дермоскопски преглед пигментних промена на кожи (АБЦД критеријуми и др.). ПХ критеријуми, битни за дијагностику примарног меланом, а значајни за овај рад, су такође описани: дебљина меланом по Breslowu, степен инвазије по Clarku, присуство улцерације, лимфоваскуларна инвазија (ЛВИ), лимфоцитна инфилтрација и присуство регресије. Клинички преглед и преглед УЗ

вођеном АТИ ЛЧ стражара су детаљно описани. Описани су и принципи и начин извођења биопсије ЛЧ стражара (БЛЧС). ПХ налази ЛЧ стражара и осталих ЛЧ рађени стандардним и имунохистохемијским методама су били златни стандард и у овом раду. Приказано је хируршко лечење примарног меланома и метастатски измењених ЛЧ систематски. Због података из литературе да су, у 60%-70% случајева присутне микрометастазе у ЛЧС код меланома дебљих од 4мм по Breslowu кандидат је поставио следећу хипотезу: Метода ултразвучно вођене аспирације танком иглом код болесника са меланомом коже детектује микрометастазе са приближном специфичношћу, сензитивношћу и тачношћу као и биопсија лимфног чвора стражара. За проверу хипотезе кандидат је дефинисао следеће циљеве истраживања:

- да одреди сензитивност методе ултразвучно вођене аспирације танком иглом ЛЧ стражара код болесника са; танким меланомом коже (тањи од 1 мм, са присутним митозама и/или улцерацијом и/или Clark IV и/или регресијом већом од 25%) интермедијарним меланомом коже (од 1,1 мм до 4 мм) и дебелим меланомом коже (изнад 4 мм).
- да одреди специфичност методе ултразвучно вођене аспирације танком иглом ЛЧ стражара код болесника са; танким меланомом коже (тањи од 1 мм са присутним митозама и/или улцерацијом и/или Clark IV и/или регресијом већом од 25% интермедијарним меланомом коже (од 1,1 мм до 4 мм) и дебелим меланомом коже (изнад 4 мм).
- да одреди тачност методе ултразвучно вођене аспирације танком иглом ЛЧ стражара код болесника са танким меланомом коже (тањи од 1 мм са присутним митозама и/или улцерацијом и/или Clark IV и/или регресијом већом од 25%), интермедијарним меланомом коже (од 1,1 мм до 4 мм) и дебелим меланомом коже (изнад 4 мм).
- да утврди статистичку значајност методе ултразвучно вођене аспирације танком иглом између испитиваних група.
- да одреди статистичку значајност између присуства; улцерације, лимфоцитне инфилтрације, лимфоваскуларне инвазије и регресије у ПХ налазу код примарног меланома и метастаза у ЛЧ стражару, добијених УЗ вођеном АТИ и БЛЧС, код свих пацијената .
- да одреди статистичку значајност између величине ЛЧ стражара и тачности методе ултразвучно вођене аспирације ЛЧ стражара.

### 3. Кратак опис постигнутих резултата

У поглављу **Испитаници и методе** представљено је истраживање које је обављено у Клиници за ПЛХ и опекотине, Институту за радиологију, Институту за нуклеарну медицину, Институту за патолгију и Одсеку за цитологију, по моделу проспективне студије. Анализирано је шездесет пацијената, који су претходно оперисани од примарног меланома у Ib и II клиничком стадијуму болести, у периоду од 2012-2014г. Испитаници су подељени у **три групе**. У **првој** групи било је двадесет пацијената оболелих од танког меланома Breslow до 1мм, са присутним митозама и/или улцерацијом и/или Clark IV . У **другој** групи било је двадесет пацијената оболелих од интермедијарног меланома - Breslow од 1,1мм до 4мм. У **трећој** групи било је двадесет пацијената оболелих од дебелог меланома - Бреслов већи од 4мм. Клинички стадијум болести је утврђиван: палпацијом, ултразвучним прегледом регионалних лимфних басена (врата, пазуха, препона) абдомена и мале карлице, РТГ снимком срца и плућа и лабораторијским анализама. У свим групама анализирани су само пацијенти који су имали један детектован ЛЧ стражар и то само у једном лимфном басену. Преоперативна лимфосцинтиграфија је извођена коришћењем двоглаве гама камере Adac-Vertex. Након интрадермалне апликације радиофармака Технецијумом -99m

обележеног наноколоидом (Nanocis®) активности 15 MBq и волумена 01.мл, на три до четири места зависно од локализације примарног тумора. Динамска студија је рађена прикупљањем 7-10 једноминутних фремова главом камере постављеном изнад места апликације. Рани и одложени статички скинтиграми су рађени прикупљањем петоминутних фремова над регионалним басенима дренаже билатерално, све до визуелизације сентинелног лимфног чвора. Површинска локација сентинелног лимфног чвора је маркирана на кожи, након провере из ортогоналних положаја у регионалним лимфним басенима у пределу препона, пазуха и врата. Ово је учињено 24 часа пре аспирације ЛЧ стражара у Институту за нуклеарну медицину ВМА. У клиници за ПЛХ и опекотине два часа пре операције око оживља од ексцизионе биопсије интрадермално је убризган 1% Метилен – плаво. По убризгавању 1% Метилен-плавог идентификован је ЛЧ стражар ултразвучним прегледом пацијената све три групе у Институту за радиологију ВМА, ултразвучним апаратом типа TOSHIBA APLIO X6SA-790A са мултифреквентном сондом, фреквентног опсега од 6-12MHz. Сви ЛЧ су били прегледани у Б-моду *real time*, пулсним колор Doppler-ом, *power modom*-ом. Потом је пацијентима све три групе учињена ултразвучно вођена аспирација танком иглом ЛЧ стражара са иглама промера 27 Gejdža (0,4x20мм) и 25 Gejdža (0,5x25мм) што је зависило од удаљености ЛЧ стражара од површине коже. Коришћен је исти тип ултразвучног апарата. Као доказ да је добро учињена аспирација било је присуство хематома и убода у ектирпираним лимфним чвору стражару. Материјал добијен аспирацијом ЛЧ стражара размазан је на предметно стакло, осушен на ваздуху и прослеђен у Одељење за патологију и цитологију Института за патологију и судску медицину ВМА, где је бојен по May-Grumwald Giemsi и прегледан од стране цитолога. Цитодијагноза је категоризирана као позитивна, или негативна на меланом. Позитивни на метастатски меланом сматрани су они налази где су у размазима материјала нађене добро очуване малигне ћелије са пигментом или неким од типичних цитолошких карактеристика за меланом. Свим пацијентима је учињена биопсија ЛЧ стражара такође у клиници за ПЛХ и опекотине. Интраоперативна детекција сентинелног лимфног нодуса је извођена преносивом гама сондом Еуропробе. Сентинелним је сматран лимфни чвор изнад кога сонда регистуре највећу радиоактивност. Хистопатолошке анализе ЛЧ свих испитаних пацијената обављене су у Институту за патологију и судску медицину ВМА. Примењиване су следеће методе: бојење хематоксилин-еозинем (H&E) и имунохистохемијске методе (примена антитела на тумор специфичне протеине као што су S-100 i HMB 45).

У Статистичкој обради података су поред уобичајених параметара дескриптивне статистике (средња вредност, стандардна девијација, распон, медијана и фреквенције појаве неких обележја), коришћени и други тестови из домена аналитичке статистике. У зависности од нормалности расподеле праћених параметара и броја група између којих је тражена статистичка значајност, од параметарских тестова је коришћена анализа варијансе у 1. правцу која је завршавана Tukeyevim тестом или непараметарски Kruskal-Wallis тест за независна обележја који је у *post hoc* анализи завршаван применом Mann-Whitney *U* тестом. Постојање статистички значајне разлике између дистрибуција фреквенција појединих група проверавано је применом hi-kvadrat testa.

Сензитивност, специфичност, позитивна и негативна предиктивна вредност и тачност испитиваних патохистолошких техника утврђена је на добро познати стандардни начин (табеле контингенције 2 x 2). Минимална статистичка значајност утврђена је на нивоу  $p < 0,05$ . За статистичку анализу коришћен је комерцијални статистички софтвер SPSS, верзија 18 (САД).

Добијени резултати показују да сензитивност методе ултразвучно вођене аспрације танком иглом у овој студији за све испитанике је 50% и креће се по групама: прва група 0%, друга група 33,3% и трећа група 66,6%. Специфичност методе ултразвучно вођене аспрације танком иглом за све испитанике и испитанике по групама је 100%. Тачност или предвиђање позитивног исхода методе ултразвучно вођене аспрације танком иглом код свих испитаника је 88% и креће се по групама: прва група 90%, друга група 90% и трећа група 85%. ~~Ниска~~ Сензитивност код танких и интермедијарних меланома је ниска јер је и проценат микрометастаза нижи код ове две групе. С тим у вези могућност добијања микрометастаза помоћу УЗ вођене АТИ, која је ипак делимично насумична и мање прецизна метода од БЛЧС, је знатно мања у ове две групе меланома. Добијени резултати микрометастаза помоћу УЗ вођене АТИ ће смањити број БЛЧС, која је прецизнија али и компликованија метода. Метода је показала валидност само код код тумора дебљих од 4 мм, и у овој групи пацијената би могла да нађе своју клиничку примену. Очекивано је било да ће сензитивност ове методе бити приближна сензитивности методе БЛЧС која износи 93%-97,3% јер су Lens MB, et all објавили присуство микрометастаза у ЛЧ стражару 60%-70% код меланома дебљих од 4 мм. Међутим то није показано. Истраживање је потврдило хипотезу везану за специфичност и тачност по испитиваним групама УЗ вођене АТИ, али није потврдила статистички знањај сензитивности методе. Највећа сензитивност (66%) ове методе (УЗ вођене АТИ) добијена је у трећој групи испитаника што је било и очекивано, јер ову групу чине испитаници са дебелим меланомом који најчешће даје микрометастазе у ЛЧ стражару. Од свих позитивних цитолошких налаза у трећој групи је било 85,7% испитаника са позитивним цитолошким налазом добијених УЗ вођеном АТИ ЛЧ стражара што представља умерено статистички значајну разлику *између група* на нивоу  $p < 0,01$ . Такође је у истраживању показано да сензитивност методе не зависи од пола испитаника као ни од површине ЛЧ стражара. У истраживању код сваког пацијента анализиран је само један ЛЧ стражар из једног регионалног басена јер је испитиван утицај: улцерације, лимфоваскуларне инвазије, лимфоцитне инфилтрације и регресије код примарног меланома на методу УЗ вођене АТИ. У истраживању регистрована је статистички значајна повезаност позитивних цитолошких налаза у ЛЧ стражару, добијених УЗ вођеном АТИ, и присуства улцерација у примарном меланому  $p = 0,02$ . Овакав значајан утицај улцерације примарног меланома на анализирану методу УЗ вођене АТИ можемо објаснити присуством великог броја испитаника са позитивним цитолошким налазом у трећој групи, где се налази и статистички значајно највећи број пацијената са улцерацијом примарног меланома. Нема статистичке значајности између присуства улцерације код примарног меланома и налаза микрометастаза у ЛЧС добијеном методом БЛЧС. Лимфоваскуларна инвазија (ЛВИ) примарног меланома била је присутна код пет испитаника чија се дистрибуција по групама кретала од 5%-10%. Није постојала статистичка значајност између група. Од укупно пет испитаника који су имали присутну ЛВИ примарног меланома у 28,6% случајева је био позитиван ПХ налаз добијен БЛЧС. Овај резултат има статистичку значајност на нивоу  $p < 0,01$  и указује на то да постоји повезаност између ЛВИ и присутности микрометастаза у ЛЧ стражарима. У 42,9% испитаника у овој студији је био позитиван цитолошки налаз ЛЧ стражара добијених методом УЗ вођеном АТИ а имали су присутну ЛВИ примарног меланома. Овај резултат има статистичку значајност на нивоу  $p < 0,005$  те указује да анализирани метод УЗ вођене АТИ има прецизније резултате код пацијената који имају ЛВИ примарног меланома. Није доказана статистичка значајност између лимфоцитне инфилтрације и регресије код примарног меланома и појаве микрометастаза у ЛЧС добијених методама БЛЧС или УЗ вођене АТИ.

У поглављу **дискусија** кандидат систематично и критички коментарише добијене резултате у светлу ојављених литературних података. Обзиром да је ово истраживање делимично потврдило хипотезу постоји оправданост да методу УЗ вођене АТИ треба увести у рутинску клиничку праксу код меланома дебљих од 4мм у пацијената чији су ЛЧ стражари клинички и УЗ бенигни због: лакшег извођења, мањег броја компликација и вишеструке економске исплативости примене ове методе.

#### **5. Објављени радови из ове докторске тезе:**

**Шијан Г. .\*<sup>#</sup>, Козарски Ј. .\*<sup>#</sup>, Милојевић С. &<sup>#</sup>, Стефановић Д. &<sup>#</sup>, Татомировић Ж. ‡<sup>#</sup>, Јауковић Љ. §<sup>#</sup>, Весановић С. ®, Рајовић М. \***

**Validity of ultrasound-guided fine needle aspiration in diagnosis of micro-metastases in sentinel lymph nodes in patients with skin melanoma (Vojnosanit.Pregl. Accepted for press)**

Јауковић Љ., **Шијан Г.**, Рајовић М., Кандолф Секуловић Л., Радуловић М., Мијушковић Ж., Золотаревски Л., Ајдиновић Б., Новаковић М. **Lymposcintigraphy and sentinel lymph node biopsy, in cutaneous melanoma staging and treatment decisions ( Hell J Nucl. Med. Accepted for press)**

#### **6. Закључно мишљење и предлог**


Докторска теза асист. мр сц мед Горана Шијана из Клинике запластичну хирургију и опекотине ВМА под насловом: **„ВАЛИДНОСТ УЛТРАЗВУЧНО ВОЂЕНЕ АСПИРАЦИЈЕ ТАНКОМ ИГЛОМ У ДИЈАГНОСТИЦИ МИКРОМЕТАСТАЗА У ЛИМФНИМ ЧВОРОВИМА СТРАЖАРИМА У ОБОЛЕЛИХ ОД МЕЛАНОМА КОЖЕ** „ представља оригиналан и веома актуелан рад. Написан је концизно, јасно и систематично. Истраживање је методолошки коректно спроведено и омогућава извођење валидних закључака. Садржи све неопходне делове који су адекватно укомпоновани. Простор који је аутор дао појединим поглављима одговара њиховом значају. Чланови комисије сагласни су у мишљењу да докторска теза пп. асист. мр сц мед Горана Шијана испуњава све предвиђене академске критеријуме и представља значајан и оригиналан допринос лечењу болесника са меланомом.

На основу свега наведеног, Комисија једногласно предлаже Наставно-научном већу Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду, јер су испуњени сви законски услови за јавну одбрану докторске тезе, да извештај Комисије за оцену готове докторске тезе пп. асист. мр сц мед Горана Шијана, под називом: **„ВАЛИДНОСТ УЛТРАЗВУЧНО ВОЂЕНЕ АСПИРАЦИЈЕ ТАНКОМ ИГЛОМ У ДИЈАГНОСТИЦИ МИКРОМЕТАСТАЗА У ЛИМФНИМ ЧВОРОВИМА СТРАЖАРИМА У ОБОЛЕЛИХ ОД МЕЛАНОМА КОЖЕ**„ прихвати њену и одобри јавну одбрану.

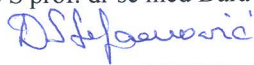
U Beogradu, 18.08.2015.g.

KOMISIJA

1. pk prof. dr sc med Jefta Kozarski

  
\_\_\_\_\_

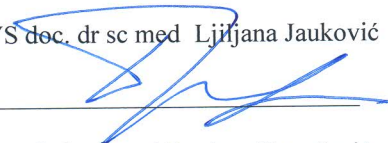
2. VS prof. dr sc med Dara Stefanović

  
\_\_\_\_\_

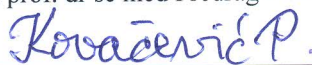
3. VS prof. dr sc med Željka Tatomirović

  
\_\_\_\_\_

4. VS doc. dr sc med Ljiljana Jauković

  
\_\_\_\_\_

5. prof. dr sc med Predrag Kovačević

  
\_\_\_\_\_