

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ**  
**ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**

**ОДЛУКА НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА**

Одлуком Наставно-научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, број 01-5586/3-18 од 03.06.2015. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата др мед. Игора Ђуришића, под називом:

**„КОРИШЋЕЊЕ МЕТИЛЕН ПЛAVОГ КАО ЈЕДИНОГ КОНТРАСТА ЗА ОДРЕЂИВАЊЕ СТАТУСА ЛИМФНИХ ЧВОРОВА ПАЗУШНЕ ЈАМЕ КОД МИНИМАЛНО ИНВАЗИВНОГ РАКА ДОЈКЕ “**

На основу одлуке Наставно - научног већа формирана је Комисија за оцену научне заснованости теме докторске дисертације у саставу:

1. **Проф. др Радан Џодић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хирургија, председник;
2. **Проф.др Александар Карамарковић**, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хирургија са анестезиологијом, члан;
3. **Доц. др Срђан Нинковић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Хирургија, члан.

На основу увида у приложену документацију, комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу следећи:

**ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ НАУЧНЕ ЗАСНОВАНОСТИ ТЕМЕ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Кандидат др мед. Игор Ђуришић испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета Медицинских наука у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

## **2.1. КРАТКА БИОГРАФИЈА КАНДИДАТА**

Др Игор Ђуришић је рођен 12.09.1974.године у Београду где је завршио основну и средњу школу „Х Београдску Гимназију-Михајло Пупин“. Стекао је звање доктор медицине на Медицинском факултету у Београду 2001.године. Запослен је на Институту за онкологију и радиологију Србије од 2003.године. Положио је специјалистички испит из опште хирургије на Медицинском факултету у Београду 2010.године са одличном оценом. Академске 2011/2012.године уписао је Докторске академске студије на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу, смер клиничка и експериментална хирургија. Положио је све програмом студија предвиђене испите, као и усмени докторантски испит априла 2012.године. Учествовао је на домаћим и међународним симпозијумима и конгресима као слушалац и као усмени излагач. Учествовао је на пројекту “А prospective, single-blind, randomized, phase III study to evaluate the safety and efficacy of fibrin sealant grifols (FS Grifols) as an adjunct to hemostasis during parenchymous tissue open surgeries”, финансиран од стране спонзора Грифолс, од 2014. до 2015. године. Аутор је или коаутор већег броја радова објављених у целини у домаћим и интернационалним часописима. Члан је ESSO (Европско удружење онколошких хирурга).

## **2.2. НАСЛОВ, ПРЕДМЕТ И ХИПОТЕЗЕ ДОКТОРСKE ТЕЗЕ**

**Наслов: КОРИШЋЕЊЕ МЕТИЛЕН ПЛАВОГ КАО ЈЕДИНОГ КОНТРАСТА ЗА ОДРЕЂИВАЊЕ СТАТУСА ЛИМФНИХ ЧВОРОВА ПАЗУШНЕ ЈАМЕ КОД МИНИМАЛНО ИНВАЗИВНОГ РАКА ДОЈКЕ**

**Предмет:** Указивање на предности и поузданости технике обележавања стражарског лимфног чвора у пазушној јами метилен плавом бојом као јединог контраста (single contrast), проучавање анатомског положаја стражарског лимфног чвора у пазушној јами мапираног метилен плавом бојом, испитивање тачности интраоперативне патохистолошке анализе стражарског лимфног чвора мапираног метилен плавом бојом поређењем резултата након ex tempore анализе и стандардне патохистолошке обраде, испитивање предиктивне вредности ex tempore анализе стражарског лимфног чвора за статус других аксиларних лимфних чворова, разматрање неопходности дисекције пазушне јаме и њеног

опсега као и могућности њеног ограничавања на оне случајеве код којих је интраоперативном патохистолошком анализом показано присуство метастазе у стражарском лимфном чвору.

### **Хипотезе:**

1. метилен плаво као једини контраст може да обезбеди прецизну интраоперативну процену захваћености лимфних чворова пазушне јаме
2. Успешност мапирања стражарског лимфног чвора виталном бојом је висока и зависи, између осталог, од технике убризгавања.
3. Визуелна идентификација стражарског лимфног чвора у пазушној јами и његова биопсија зависи од искуства хирурга и променљив је фактор од значаја за успешност методе мапирања стражарског лимфног чвора („learning curve,,).
4. Интраоперативна, брза, патохистолошка анализа стражарског лимфног чвора може дати прецизне податке о његовој метастатској захваћености или негативном налазу.
5. Захваћеност стражарског лимфног чвора метастазом, показана интраоперативном патохистолошком анализом, може поуздано да селекује болеснице са раком дојке за комплетну аксиларну дисекцију и има предиктивни значај за статус других аксиларних лимфних чворова.
6. Хируршко лечење у једном акту, односно током једне хоспитализације, код болесница са позитивним стражарским лимфним чвором, смањује ризик од увођења у анестезију и редукује трошкове лечења.

## 2.3. ИСПУЊЕНОСТ УСЛОВА ЗА ПРИЈАВУ ТЕМЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Кандидат др Игор Ђуришић је као први аутор објавио рад у целини у научном часопису са рецензијом, чиме је испунио услов за пријаву докторске тезе:

1. **Djurisic I**, Santrac N, Buta M, Oruci M, Markovic I, Nikolic S, Zegarac M, Dzodic R. Can we use frozen section analysis of sentinel lymph nodes mapped with methylene blue dye for decision making upon one-time axillary dissection in breast carcinoma surgery in developing countries? J BUON. 2015 Mar-Apr;20(2):492-7. (M23-3 boda)

## 2.4. ПРЕГЛЕД СТАЊА У ПОДРУЧЈУ ИСТРАЖИВАЊА

Присуство метастаза у пазушној јами је најснажнији прогностички фактор код пацијената са примарно операбилним раком дојке а процена аксиларног статуса захтева хистопатолошку анализу екстирпираниог лимфног чвора. Процена захваћености аксиларних лимфних чворова може да се оствари поред дисекције аксиле и биопсијом лимфних чворова при чему је неопходно уклонити најмање 4 лимфна нодуса. Рутинска дисекција пазушне јаме у циљу стажирања аксиле је практично напуштена. У данашње време дисекције аксиле су само терапијске код аксиларног N1 статуса. Око 50% болесница са T1, односно нешто мање њих са T2 раком дојке, немају метастазе у регионалним лимфним нодусима, па тако не постоји ни корист од дисекције пазушне јаме. Штавише, морбидитет је веома висок. Током последње деценије биопсија стражарског лимфног чвора је постала стандард за процену захваћености лимфних чворова пазушне јаме. Према дефиницији стражарски лимфни нодус (Sentinel lymph node-SLN) је први лимфни нодус који прима аферентну лимфну дренажу из малигног тумора. Биопсија SLN је први пут описана 1960. године од стране Ernest Gould-а . Током неколико деценија бројни аутори примењивали су ову методу и испитивали њену ваљаност, те показали да је биопсија стражарског лимфног чвора код рака дојке сигурна и прецизна метода у стажирању аксиларних лимфних нодуса са малим бројем лажно негативних резултата, и да може да буде довољна за доношење одлуке о неопходности комплетне аксиларне дисекције, а са циљем избегавања дисекције уколико SLN нису захваћени метастазама. Биопсија SLN, у односу на комплетну аксиларну дисекцију, редукује могућност јављања

постоперативних компликација у виду лимфедема, ограничене покретљивости руке или губитка сензибилитета код болесница које не би имале корист од дисекције.

## **2.5. ЗНАЧАЈ И ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА СА СТАНОВИШТА АКТУЕЛНОСТИ У ОДРЕЂЕНОЈ НАУЧНОЈ ОБЛАСТИ**

Значај и циљ овог рада је да покажемо да коришћење метилен плавог као јединог контраста може бити довољно или макар задовољавајуће поуздано у процени захваћености лимфних нодуса пазушне јаме током операција рака дојке. Такође, остали циљеви овог испитивања биће да се поједностави техника његове биопсије, базирано на његовом најчешћем анатомском положају, те да се тиме покаже корисност у смислу одабира болесница са раком дојке за једновремену селективну дисекцију лимфних чворова пазушне јаме у случају позитивног ех темпоре налаза стражарског лимфног чвора.

## **2.6. ВЕЗА СА ДОСАДАШЊИМ ИСТРАЖИВАЊИМА**

Према светским протоколима препоручује се комбинована техника тј. коришћење двојног контраста (метилен плаво/патент плаво и радиоизотоп). Према Европским упутствима хирурзи који тек започињу да уводе ову методе морају на серији од 30 пацијената да достигну ниво идентификације стражарског лимфног чвора преко 90% и проценат лажно негативних резултата мањи од 10%. У земљама са нижим социо-економским статусом којима и ми припадамо, поставља се реалан проблем доступности радиоколоида и пратеће опреме (сцинтиграфије, гама камере). Због тога се истраживање ове докторске дисертације фокусира на могућности коришћења једног контраста (метилен плаво или патент плаво- single contrast) као и процени његове прецизности и тачности у лимфо-нодалном стажирању аксиле. Метилен плава витална боја је безбедна и јефтина боја, са високим процентом успешности у маркирању стражарских лимфних чворова, не само код рака дојке, већ и код меланома и карцинома штитасте жлезде, те је у свакодневној примени у установи где је спроведено истраживање. Према протоколима установе, биоптирани SLN се анализирају интраоперативно, а потом стандардном патохистолошком обрадом, и лечење се, у случају позитивног ех темпоре налаза, комплетира једновремено, током прве хоспитализације, што није случај са другим установама у којима се ова метода примењује. Светски и Европски протоколи недвосмислено препоручују коришћење од 0,2 до 0,5 ml

метилен плавог. Убригвање боје преко 0,5 мл може довести до одређених нежељених реакција као што је некроза жлезданог и масног ткива дојке и анафилактичких реакција. Ни једна публикована студија није доказала различите резултате између стопе идентификације, специфичности и сензитивности између убригвања 0,2 и 0,5 ml метилен плавог. У случајевима добијања налаза позитивног стражарског лимфног чвора (микро или макрометатазе) препоруке су да се може применити или дисекција аксиле или радиотерапија аксиле уз адјувантну системску терапију. 2013.године су објављени резултати EORTC AMAROS студије (10981/22023) на 4,806 пацијената код којих је након добијања позитивног налаза стражарског лимфног чвора рађена или дисекција аксиле или радиотерапија аксиле. У петогодишњем праћењу стопа рецидива у аксили након дисекције аксиле износила је 0.54% (4/744) према 1.03% (7/681) код пацијената након радиотерапије аксиле. Није било статистички значајне разлике у преживљавању између ове две групе пацијената. Резултати студије ACOS-OG Z0011 публиковани су у децембру 2013.године су показали да је у локалној контроли аксиле након добијања позитивног налаза стражарског лимфног чвора код пацијенткиња старијих од 66 година довољно само редовно праћење, тј. без дисекције или радиотерапије аксиле.

## **2.7. МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА**

Испитивање ће обухватити болеснице са T1/T2 раком дојке и клинички негативним аксиларним лимфним чворовима, а које су лечене хируршки уз визуелно одређивање пребојености стражарског лимфног чвора у пазушној јами након субдермалне инјекције метилен плавог перитуморски или периареоларно. Сви стражарски лимфни чворови ће бити интраоперативно патохистолошки анализирани, а затим и стандардном патохистолошком анализом, како би се испитала тачност *ex tempore* анализе стражарског лимфног чвора, њена поузданост у стажирању аксиларних лимфних нодуса и селекцији болесница за комплетну аксиларну дисекцију.

### **A. ВРСТА СТУДИЈЕ**

Клиничка опсервациона студија

## **Б. ИСПИТАНИЦИ**

Студија би обухватила болеснице са операбилним раком дојке, величине T1 или T2, клинички негативним аксиларним лимфним чворовима (N0) и без удаљених метастаза, које су лечене хируршки у периоду од октобра 2010. године до децембра 2011. године у Институту за онкологију и радиологију Србије у складу са протоколом за лечење рака дојке, а сходно одлуци Конзилијума за дојку Института за онкологију и радиологију Србије. Све болеснице су биле упознате са могућим ризицима уз потписану изјаву о добровољном учествовању у испитивању методе провере стражарских лимфних нодуса мапираних метилен плавом бојом која је тада била у поступку увођења као златног стандарда за аксиларно лимфо-нодално стажирање. Код свих болестница је након биопсије стражарског лимфног чвора пазушне јаме рађена и дисекција пазушне јаме сходно Европским препорукама за лечење рака дојке.

Сходно важећим ASCO (American society of clinical oncology препорукама), болеснице са следећим карактеристикама болести и стањима не би биле укључене у испитивање:

- локално унапредовали рак дојке или *cancer* маститис,
- болеснице које су лечене неoadјувантно,
- болеснице које су имале претходне хируршке захвате на дојци због доброћудних лезија (ексцизионе биопсије) или из естетских разлога,
- болеснице које су имале неку хируршку интервенцију у пазушној јами,
- болеснице са рецидивом рака у истој дојци,
- болеснице у трудноћи или лактацији.

Ток болести, у смислу појаве раних односно касних компликација и укупног и преживљавања без знакова болести, био би праћен код свих укључених болесница до јануара 2015.године.

## **В. УЗОРКОВАЊЕ**

Све испитанице које би задовољиле критеријуме, биле би подвргнуте мапирању стражарског лимфног чвора у пазушној јами субдермалним убризгавањем 1%-метилен

плавог у дојку (у количини 0.2, 0.5 или 1.0 ml, перитуморски или периареоларно, 5, 10 или 20 минута пре реза коже.

Како је циљ испитивања улога стражарског лимфног нодуса, само болеснице код којих би интраоперативно била визуелно потврђена пребојеност једног или више лимфних чворова биле би укључене у студију, док би оне са непребојеним лимфним чворовима биле искључене из испитивања.

Код свих селектованих болесница, био би одређен положај стражарског лимфног нодуса у пазушној јами (ниво 1, 2 или 3 по Berg-у), а након хируршке ексцизије (биопсије), стражарски лимфни чворови би били интраоперативно анализирани од стране патолога. Код свих болесница би, као додатак поштедној или радикалној операцији рака дојке, била учињена и комплетна дисекција пазушне јаме ослањајући се на Европске препоруке (Association of Breast Surgery at BASO) при којима сваки хирург може безбедно и рутински да користи технику биопсије лимфног чвора стражара тек након што на серији од 30 пацијената достигне ниво идентификације стражарског лимфног чвора преко 90% и проценат лажно негативних резултата мањи од 10%.

Код свих болесница су стандардно одређивани статус стероидних рецептора (естрогенски прогестеронски рецептори), HER-2 и Ki 67%.

## **Г. ВАРИЈАБЛЕ КОЈЕ СЕ МЕРЕ У СТУДИЈИ**

*Независне варијабле:*

Демографске карактеристике болесника - старост пацијенткиња.

Карактеристике примарног тумора - патохистолошки тип тумора дојке, величина тумора дојке, TNM класификација примарног рака дојке, статус хормонских естроген/прогестерон рецептора тумора дојке, статус HER-2 рецептора тумора дојке, присуство метастаза у пазушним лимфним чворовима, Ki-67 индекс пролиферативности

*Зависне варијабле:*

Незахваћеност стражарског лимфног чвора – бенигни налаз

Захваћеност стражарског лимфног чвора - (микро) метастаза



## **Д. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА**

Студијски узорак је израчунат на основу података о вредностима MVD публикованих у студијама сличног дизајна узимајући алфа као 0.05 и снагу студије 0.8 према статистичком програму GPower \*3.

У студију су укључење болеснице које су издвојене из групе од 334 болеснице које су у периоду октобра 2010. године до децембра 2011. године хируршки лечене због рака дојке и праћене до јануара 2015. године на Институту за онкологију и радиологију Србије.

## **Ђ. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА**

За опис параметара од значаја користиће се мере дескриптивне статистике. Неколико параметара ће бити тестирано у односу на број и положај стражарских лимфних нодуса: место убризгавања, време убризгавања и количина убризганог метилен плавог. Ниво вероватноће ће бити установљен на  $p=0.05$ . Сензитивност, специфичност, позитивна и негативна предиктивна вредност методе биће израчунате. За приказ времена до појаве локалног рецидива користиће се Kaplan-Meier product-limit метода, за њихов опис медијане Survival Analysis и одговарајући 95% интервали поверења, а за тестирање разлика у времену до појаве локалног рецидива у односу на параметре од значаја Лог-ранк тест. Резултати ће бити приказани и табеларно и графички.

## **2.8. ОЧЕКИВАНИ РЕЗУЛТАТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ/ ИСТРАЖИВАЊА**

Очекује се да резултати овог истраживања, на основу специфичности, сензитивности и тачности методе интраоперативне анализе стражарског лимфног чвора(ова) и статуса других аксиларних лимфних нодуса, покажу поузданост интраоперативне провере стражарског лимфног чвора мапираног само једним контрастом, виталном бојом (метилен плаво- single contrast), те да се тиме терапијски приступ у збрињавању аксиларних лимфних чворова усмери у правцу селективних дисекција пазушне јаме чиме би се смањио морбидитет и омогућило једновремено хируршко излечење болесница са метастазама у пазушној јами које клиничком евалуацијом нису биле верификоване. Као резултат тога метода сентинел биопсије би била широко коришћена у Србији у свим центрима који се баве хирургијом рака дојке а који нису оспособљени услед лоше економске ситуације за

коришћење методе дуплог контраста. Код великог броја пацијената би на овај начин била избегнута дисекција пазушне јаме са свим својим потенцијалним компликацијама у виду серома, лимфедема, ограничене покретљивости и губитка сензибилитета екстремитета и инфекција.

## **2.9. ОКВИРНИ САДРЖАЈ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Присуство метастаза у пазушној јами је најснажнији прогностички фактор код пацијената са примарно операбилним раком дојке. Рутинска дисекција пазушне јаме у циљу стажирања аксиле је практично напуштена у корист технике сентинел ноде биопсије (SLNb). Према дефиницији стражарски лимфни чвор је први лимфни чвор који прима аферентну дренажу из малигног тумора. Испитивање ће обухватити болеснице са T1/T2 раком дојке и клинички негативним аксиларним лимфним чворовима, а које су лечене хируршки уз визуелно одређивање пребојености стражарског лимфног чвора у пазушној јами након субдермалне инјекције метилен плавог перитуморски или периареоларно. Сви стражарски лимфни чворови ће бити интраоперативно патохистолошки анализирани, а затим и стандардном патохистолошком анализом, како би се испитала тачност *ex tempore* анализе стражарског лимфног чвора, њена поузданост у стажирању аксиларних лимфних нодуса и селекцији болесница за комплетну аксиларну дисекцију.

Очекујемо да тачност интраоперативне патохистолошке анализе стражарског лимфног чвора базирана на концепту његовог мапирања виталном бојом (метилен плаво- *single contrast*) буде висока, и приближна тачности методе коришћењем двоструког контраста (*double contrast*) која износи 97%. Тиме би се показала корисност ове методе у смислу одабира болесница са раком дојке код којих би једновремено била учињена дисекција лимфних чворова пазушне јаме у случају позитивног *ex tempore* налаза стражарског лимфног чвора.

Очекујемо да наши резултати покажу да је коришћење метилен плавог као јединог контраста- (*single contrast*) током извођења технике биопсије стражарског лимфног чвора једнако поуздано као и метода двојног контраста. Уколико стражарски лимфни чвор није захваћен метастазама треба избегавати аксиларне дисекције, јер код жена са раком дојке које немају метастазе у регионалним лимфним чворовима не постоји корист од дисекције

пазушне јаме, док је морбидитет веома висок. Такође, интраоперативном провером стражарског лимфног чвора мапираног виталном бојом постиже се завршетак лечења болесница са раком дојке током прве хоспитализације, а ризик од увођења у анестезију два пута је смањен, као и трошкови лечења, што је веома важно за земље у развоју.

## **2.10. ПРЕДЛОГ МЕНТОРА**

Комисија предлаже за ментора ове докторске дисертације **Проф. др Слободана Милисављевића**, ванредног професора Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија.

## **2.11. НАУЧНА ОБЛАСТ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Медицина. Ужа научна област: Хирургија

## **2.12. НАУЧНА ОБЛАСТ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ**

1. **Проф. др Радан Џодић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хирургија, председник;
2. **Проф. др Александар Карамарковић**, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хирургија са анестезиологијом, члан;
3. **Доц. др Срђан Нинковић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Хирургија, члан.

## **ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ**

1. На основу досадашњег научног рада и публикованих радова др мед. Игор Ђуришић испуњава све услове прописане Статутом Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу и Законом о високом образовању за одобрење теме и израду докторске дисертације.
2. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен, а научна методологија јасна и прецизна.

3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза бити од научног и практичног значаја у циљу прецизнијег одређивања лимфо-нодалног аксиларног статуса код пацијената са клинички незахваћеним лимфних чворовима, а у циљу смањивања морбидитета хируршке интервенције и са значајним утицајем на избор онколошке терапије.
4. Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата др мед. Игора Ђуришића под називом „ **КОРИШЋЕЊЕ МЕТИЛЕН ПЛAVОГ КАО ЈЕДИНОГ КОНТРАСТА ЗА ОДРЕЂИВАЊЕ СТАТУСА ЛИМФНИХ ЧВОРОВА ПАЗУШНЕ ЈАМЕ КОД МИНИМАЛНО ИНВАЗИВНОГ РАКА ДОЛКЕ**“ и одобри њену израду.

#### **ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ**

**Проф. др Радан Цодић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хирургија-онкологија, председник

---

**Проф. др Александар Карамарковић**, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хирургија са анестезиологијом, члан

---

**Доц. др Срђан Нинковић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Хирургија, члан

---

Крагујевац, 20.10.2015.