

JORDI XERCAVINS MONTOSA, CATEDRÀTIC D'OBSTETRÍCIA I GINECOLOGIA DE LA FACULTAT DE MEDICINA DE LA UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA,

FA CONSTAR

Que, ha dirigit el treball realitzat per En Josep Ma Martínez Palones titulat:

UTILIDAD DEL MAPA LINFÁTICO EN EL TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DE LOS ESTADIOS PRECOCES DEL CÁNCER DE CÉRVIX

basat en la Normativa de la UAB sobre tesis doctorals basada en articles, per optar al grau de Doctor.

El treball reuneix els requisits per ser presentat i defensat davant del Tribunal que s'estableix.

Barcelona, cinc de setembre de dos mil sis.



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA

FACULTAD DE MEDICINA

**DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA, OBSTETRICIA
Y GINECOLOGÍA Y MEDICINA PREVENTIVA**

**UTILIDAD DEL MAPA LINFATICO EN EL
TRATAMIENTO QUIRURGICO DE LOS
ESTADIOS PRECOCES DEL CANCER DE
CERVIX**

**Tesis doctoral presentada por el licenciado Josep M^a Martínez i Palones
para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.**

A mi esposa.

*A mis hijos Gemma, Alex y Víctor,
por la paciencia que ha tenido conmigo.*

Intraoperative sentinel node identification in early stage cervical cancer using a combination of radiolabeled albumin injection and isosulfan blue dye injection

José M. Martínez-Palones,^a Antonio Gil-Moreno,^b María A. Pérez-Benavente,^a Isabel Roca,^b and Jordi Xercavins^{a,*}

^aUnit of Gynecologic Oncology, Department of Obstetrics and Gynecology, Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron, Barcelona, Spain

^bService of Nuclear Medicine, Hospital General Vall d'Hebron, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, Spain

Received 25 June 2003

Abstract

Objectives: We investigated the feasibility of sentinel lymph node identification using radioisotopic lymphatic mapping with technetium-99m-labeled human serum albumin and isosulfan blue dye injection in patients undergoing radical hysterectomy with pelvic lymphadenectomy for treatment of early cervical cancer.

Methods: Between September 2000 and October 2002, 25 patients with cervical cancer (FIGO stage I (n = 24) or stage II (n = 1) underwent sentinel lymph node detection with preoperative lymphoscintigraphy (technetium-99m colloid albumin injection around the tumor) and intraoperative lymphatic mapping with blue dye and a hand-held or laparoscopic gamma probe. Complete pelvic or paraaortic lymphadenectomy was performed in all cases by open surgery or laparoscopic surgery.

Results: In 23 evaluable patients, a total of 51 sentinel lymph nodes were detected by lymphoscintigraphy (mean 2.21 nodes per patient). Intraoperatively, 61 sentinel lymph nodes were identified, with a mean of 2.52 nodes per patient by gamma probe and a mean of 1.94 nodes per patient after isosulfan blue injection. Forty percent of sentinel nodes were found in the interline region and 25% in the external iliac area. Microscopic nodal metastases (four nodes) were confirmed in 12% of cases. All these lymph nodes were previously detected as sentinel lymph nodes. The remaining 419 nodes after pelvic lymphadenectomy were histologically negative.

Conclusions: Sentinel lymph node identification with technetium-99m-labeled nanocolloid combined with blue dye injection is feasible and showed a 100% negative predictive value, and potentially identified women in whom lymph node dissection can be avoided.

© 2004 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: Sentinel lymph node; Cervical cancer; Lymphoscintigraphy; Isosulfan blue; Lymphatic mapping

Introduction

Sentinel lymph node status provides important information in patients with tumors that metastasize to superficial lymph nodes, such as melanoma, breast cancer, or vulvar cancer. The sentinel lymph node is defined as the first draining lymph node of an anatomical region, so that a histologically negative sentinel lymph node would predict the absence of tumor metastases in the other

non-sentinel lymph nodes [1]. The sentinel lymph node can be reached after peritumoral injection of either a dye or a colloidal radioisotope. Detection of sentinel lymph node status has become accepted for melanoma and breast cancer [2] because the avoidance of systematic axillary or inguinofemoral dissection removes the common problem of postoperative limb edema. The sentinel node procedure is a promising staging technique for patients with vulvar cancer [3].

Radical hysterectomy with pelvic or paraaortic lymphadenectomy is the most commonly performed definitive surgical procedure for patients with early cervical cancer. In patients with early stage cervical cancer, pelvic lymph node metastases are expected in 10–15% of the cases [4]. This means that in the most favorable group of patients,

* Corresponding author. Unit of Gynecologic Oncology, Department of Obstetrics and Gynecology, Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron, Paseig Vall d'Hebron 119-129, E-08035 Barcelona, Spain. Fax: +34-93-4993028.

E-mail address: jxercavins@ub.edu (J. Xercavins).

FIGO stage IA₂, IB₁, and IIA, the majority of these patients who undergo lymphadenectomy derive no benefit from the procedure yet must endure the associated increase in risk of lymphoedema and lymphodema. Therefore, a technique based on the sentinel node procedure as it was introduced in 1977 by Cabanas [1] that makes mapping of the regional lymphatics possible and feasible may be appropriate in this patient collective.

The purpose of this study was to determine the feasibility of sentinel node identification either by laparoscopic surgery or open surgery, with a combination of preoperative lymphoscintigraphy with colloid particles of human serum albumin labeled with technetium-99 m and intraoperative lymphatic mapping with isosulfan blue dye in patients undergoing radical hysterectomy with pelvic lymphadenectomy for treatment of early cervical cancer.

Patients and method

Between September 2000 and October 2002, 25 patients (mean age 49 years, range 32–78) with histologically proven cervical cancer FIGO stage IA₁ (n = 1), IB₁ (n = 22), IB₂ (n = 1), and IIA (n = 1) who were referred to our department for radical hysterectomy, were asked to participate in this study, approved by the local ethics committee. These 25 patients selected for sentinel node evaluation were consecutively accrued over a 2-year period. Patients with bulky disease which made injection in normal cervical tissue impossible and patients with prior chemotherapy, pelvic radiotherapy, or prior non-pelvic surgery were excluded. In the 22 patients with stage IB₁, size of the primary lesion was ≤ 2 cm in approximately 50% of

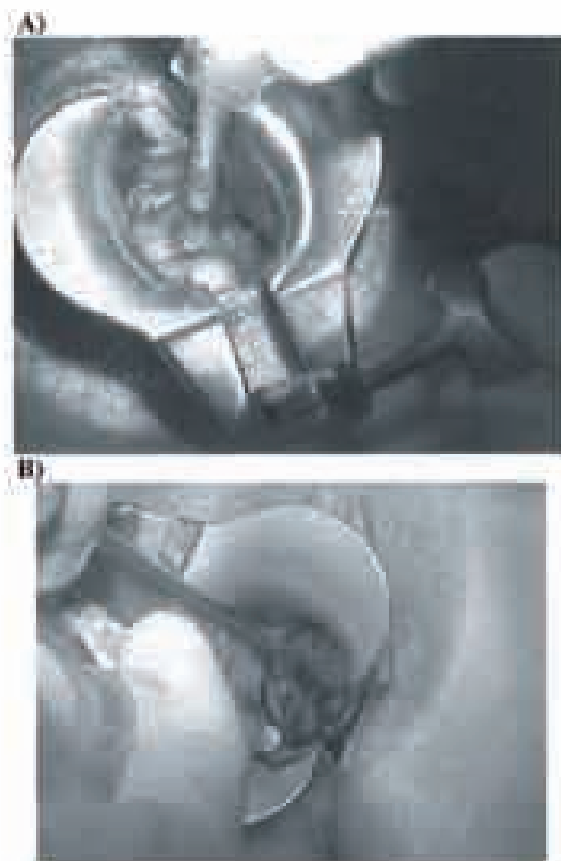


Fig. 1. (A) Peritumoral injection of the cervix with technetium-99 m-labeled nanocolloid. (B) Peritumoral injection with blue dye.

patients and >2 cm in the remaining half. The most frequent histological type was squamous cell carcinoma (64%) followed by adenocarcinoma (24%). Clinical and pathologic characteristics of the study population are presented in Table 1.

The day before surgery, the cervix viewed with a speculum, was superficially injected in each quadrant around the tumor at 3, 9, 6, and 12 o'clock positions with depots of technetium-99 m-labeled nanocolloid (Albu-res[®], Pharmaceutical Nycomed Amersham, Braunschweig, Germany), each containing approximately 10 mBq of tracer in 0.2 ml saline, using a 27-gauge hypodermic needle (Fig. 1). Immediately after injection and removal of the speculum, dynamic lymphoscintigraphy was performed using a gamma camera. Additional static images were taken after the dynamic study and about 2–3 h after injection to identify the sentinel node (Fig. 2). At the time of surgery, after induction of general anesthesia and speculum viewing of the cervix, approximately 2–4 ml of isosulfan blue dye (lymphazurin 1%) was injected superficially around the tumor at the same locations as the tracer. Complete pelvic or para-aortic lymphadenectomy was performed in all cases either by laparotomy or laparoscopic surgery. The sentinel node was detected before opening the peritoneum using a hand-held (Europrobe[®]) or laparoscopic (Navigator[®], Auto-Su-

Table 1
Tumor and treatment characteristics

Characteristic	No. of patients	%
Histology		
Squamous	16	64
Adenocarcinoma	6	24
Lymphocarcinoma	1	4
Undifferentiated	1	4
Neuroendocrine	1	4
Stage		
IA ₁	1	4
IB ₁	22	88
IB ₂	1	4
IIA	1	4
Grade		
I	4	16
II	9	36
III	5	20
Unknown	7	28
Previous treatment		
Yes	6	24
No	19	76
Surgical approach		
Open surgery, laparotomy	19	76
Laparoscopic surgery	6	24



Fig. 2. Lymphoscintigraphy showing identification of sentinel lymph nodes in the left iliac vessels.

ture) gamma probe. Next, nodal tissue was examined visually for blue staining and audible signals above background. If the counts were at least 10-fold above background levels, the node was considered sentinel. All sentinel nodes were recorded by their relative position to the major pelvic vessels (Fig. 3). Sentinel nodes were labeled as blue, hot (radioactive), or blue/hot.

The radioactive and blue nodes were dissected separately and submitted for pathologic examination. Pathologic ex-



Fig. 3. Sentinel lymph node identified with technetium-99m-labeled macrophage and blue dye. Area with intense blue staining (arrow).

amination of the nodes consisted of hematoxylin–eosin examination (one slide per each 0.2-mm section). Negative hematoxylin and eosin sections were prepared for wide spectrum cytokeratin immunohistochemical analysis (CK-88). After sentinel node procedure, all patients underwent Piver's radical hysterectomy (types II–III) with pelvic or paraaortic lymphadenectomy at the discretion of the attending surgeon. A total of 18 patients underwent open surgery and seven laparoscopic surgery.

A technically inadequate procedure was defined as one in which no sentinel node was identified including patients with inadequate injection of the tracer or the dye.

Results

Twenty-three of the 25 patients were evaluable for lymphoscintigraphy. In one patient, no sentinel node was identified and in another, a technical failure occurred. In 23 evaluable patients, a total of 51 sentinel lymph nodes were detected by lymphoscintigraphy (mean 2.21 nodes per patient, range 1–4). Location of nodes included the interiliac region in 37% of cases, external iliac in 25.5%, common iliac in 12%, and obturator in 10%. On the day of surgery, 58 nodes were detected in 23 patients (mean 2.52 nodes per patient, range 1–5). Locations of nodes were the interiliac region in 41% of cases, external iliac in 26%, common iliac in 15.3%, and obturator in 7%.

A total of 37 blue sentinel nodes were detected in 19 evaluable patients (mean 1.94 nodes per patient, range 1–4). Six patients were not evaluable due to inadequate injection of the dye ($n = 2$) and impossibility of performing the blue stain because of unavailability of the dye at that moment ($n = 4$). In the two patients with inadequate injection dye, sentinel nodes were detected by lymphoscintigraphy. Blue stained nodes were in the interiliac region in 43% of cases, external iliac in 28%, common iliac in 11%, and obturator in 11% (Table 2). No allergic reactions to blue dye occurred.

The characteristics of the 61 sentinel nodes identified by combining the blue dye and radioisotope localization techniques are shown in Table 3 and Fig. 4. In nine patients

Table 2
Methods of identification of sentinel lymph nodes by nodal location

Location	Method of identification			Total
	Blue and hot	Hot only	Blue only	
Common iliac	4	5	0	9
External iliac	10	3	1	14
Intercrural	15	9	1	25
Obturator	3	1	1	5
Paraaortic	0	1	0	1
Aortic bifurcation	0	2	0	2
Preaortic	2	1	0	3
Total	34	24	3	61

Table 1
Sentinel node block characteristics

	Hot	Cold hot	Total
Hot	24	1	25
Not hot	24	0	24
Total	48	1	49

(26%), unilateral sentinel nodes were found. The remaining 16 patients had bilateral sentinel nodes.

After completing pelvic and paraortic lymphadenectomy, a total of 480 nodes including the 61 sentinel nodes were obtained, with a mean of 19.2 nodes per patient (range 10–31). Routine hematoxylin and eosin staining sections of the sentinel nodes revealed metastasis in four nodes from three patients (12%). The 57 sentinel nodes that were negative on hematoxylin and eosin were submitted to cytokeratin immunohistochemical analysis. No metastases were identified with this technique. The remaining 419

nodes were histologically negative (negative predictive value 100%).

Discussion

We found that sentinel node detection in women with early cervical cancer is feasible and safe either by laparoscopic surgery or laparotomy. Detection by technetium-99 m-labeled nanocolloid resulted in a higher yield of sentinel nodes than blue dye. Successful implementation of lymphatic mapping techniques is dependent on operator skill as well as tumor-specific factors, such as tumor size, predictability of the regional lymphatic drainage pattern, and accessibility of lymphatic basins.

Several lymphatic mapping studies have been performed in patients with cervical cancer [8–11]. In 1999, Echi et al. [5] reported that lymphazurin dye was useful in identifying the sentinel nodes draining vulvar and cervical cancers. In

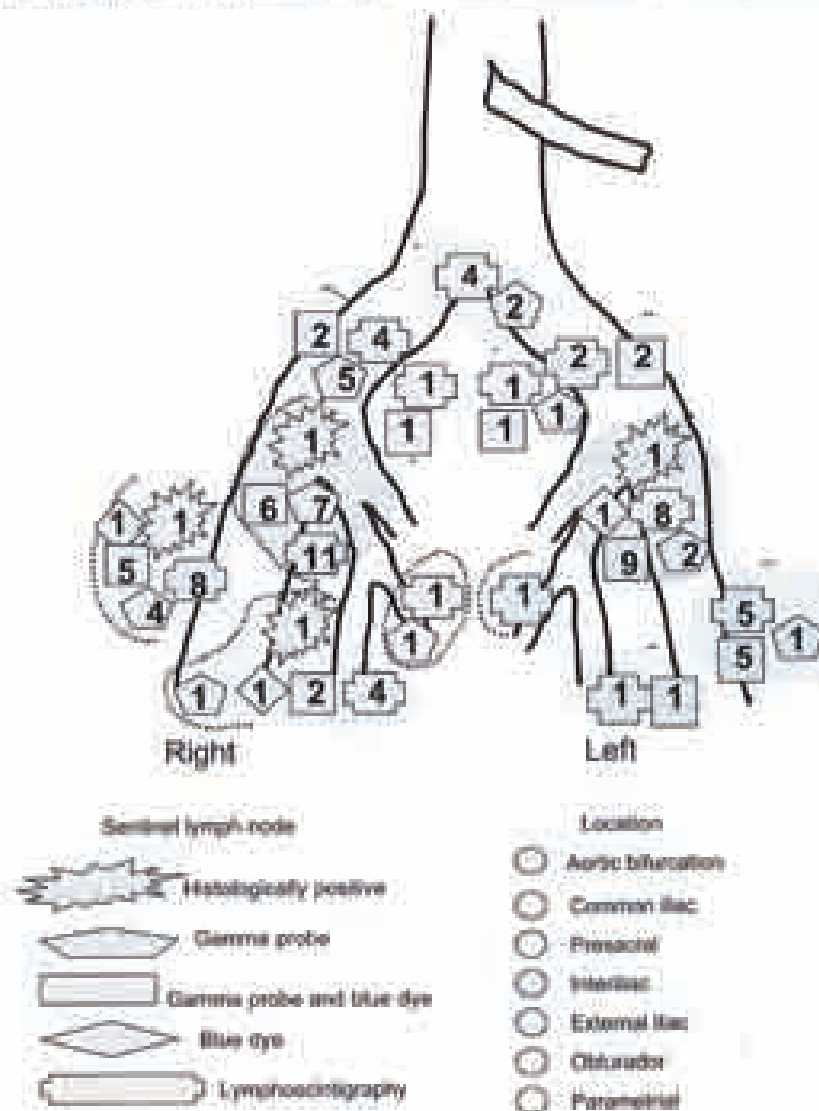


Fig. 4. Lymphatic mapping during different procedures of sentinel lymph node detection.

three cases of early cervical cancer. Mehl et al. [6] 1 year later, demonstrated that isosulfan blue dye injected para-cervically into each lateral fornix immediately before surgery identified two to three blue-stained (sentinel) lymph nodes per patient. By contrast, O'Boyle et al. [7] using intracervical injection of isosulfan blue dye in 20 patients showed a low rate of sentinel lymph node identification (60%). Metcalf et al. [8] followed 250 cases of stage III-IVA cervical cancer and concluded that "the concept of sentinel node or group is not tenable" given the effect of nodal involvement on survival. Dargent et al. [9] used the laparoscopic approach for the injection of patent blue violet and, in a series of 15 patients, found a failure rate of 14.5% which was mainly attributed to an insufficient quantity of injected dye. Verheijen et al. [10] used preoperative lymphoscintigraphy with technetium-99m colloidal albumin and blue dye injection at the start of surgery in 10 stage III cervical cancer patients in whom intraoperative gamma probe detection was successful in eight and visual detection in only four. In the study of 50 patients with cervical cancer FIGO I–IV of Mahar et al. [11], a combination of radioisotopically labeled albumin with blue dye allowed a detection rate of sentinel nodes of 78%. However, the clinical validity of this study in FIGO stages I–II bulky to III–IV is arguable as these patients are candidates to concomitant chemotherapy and radiotherapy [12]. Levenback et al. [13] in 39 patients who underwent preoperative lymphoscintigraphy by injection of technetium-99m radiocolloid and intraoperative lymphatic mapping with blue dye, found that the sensitivity of the procedure was 87.5% and the negative predictive value was 97%. In the study of Lambaudie et al. [14], using a combination of blue dye injection and technetium radiocolloid injection, laparoscopic identification of

sentinel lymph nodes in 12 patients showed a negative predictive value of 90%. However, in the study of Van Dam et al. [15] with technetium-99m-labeled nanocolloid, the detection rate in 25 patients was 84% and no false negative sentinel lymph nodes. In the studies of Kamprath et al. [16] and Lantsch et al. [17], the detection rates were 89.8% and 93%, respectively, with no cases of false negatives. Results of the present study compared with previous data in the literature are shown in Table 4.

In our study of 25 patients with early cervical cancer, only lymph nodes histologically positive were previously identified as sentinel lymph nodes so that negative predictive value was 100%. In agreement with the experience of Levenback et al. [13] a higher detection rate was obtained a combination of technetium-99m-labeled nanocolloid and blue dye injection. Four histologically involved nodes were observed using both procedures. In one case, a parametrial sentinel node in the radical hysterectomy specimen was identified. This node was hot.

Previous coirization does not represent a problem with this technique, but the injection of technetium-99m-labeled nanocolloid and posterior blue dye should be performed precisely in the peripheral area of the "remaining cervix". In our series, this was done in eight cases (28%). It is important to take into account that previous coirization in these patients was performed for diagnostic purposes. Other authors [9,13] have not detected an increase of failures of sentinel node identification in patients with previous coirization. No adverse effects were observed except for a transient pulse oximetry desaturation immediately after injection of isosulfan blue dye, depending on the dosage, which did not require treatment [18].

Table 4
Comparison of our results according to literature

Author	Methods	No. patients	SLN found	SLN pathology	SLN vs other LN pathology	SLN detection rate
Feld et al. [1]	Blue dye	13	in two patients	Not reported	Not reported	15.4%
Mehl et al. [6]	Blue dye	3	2–3 patient	All positive	Negative	100%
O'Boyle et al. [7]	Blue dye	20	23 nodes in 12 patients	3	1	60%
Dargent et al. [9]	Blue dye	15	67 nodes in 15 patients	11	Negative	100%
Verheijen et al. [10]	Scintigraphy and blue dye	10	in 5 patients	1	1	80%
		10	in 4 patients	(1)	(1)	80%
Kamprath et al. [16]	Scintigraphy	18	in 16 patients	1	Negative	89.8%
Lantsch et al. [17]	Scintigraphy	14	26 nodes in 11 patients	2 positive in 1 patient	Negative	93%
Mahar et al. [11]	Scintigraphy	41/50	in 34 patients	3	Negative	83%
	Blue dye only	9/50	in 7 patients	1	1	88.9%
Levenback et al. [13]	Scintigraphy and blue dye	39	132 nodes in 28 patients	21	1	100%
Lambaudie et al. [14]	Scintigraphy and blue dye	12	11	3		
Van Dam et al. [15]	Scintigraphy	25	21			84%
Present series	Scintigraphy and blue dye	25	61 nodes in 25 patients	4	Negative	100%

We found no differences in the number and location of sentinel lymph nodes detected by laparotomy or laparoscopic surgery. Indeed, this last procedure allows greater facility and clearer vision of the blue staining of the nodes as well as of the lymphatic vessels. The detection of sentinel node or the practice of the lymphoscintigraphy whether it be in cervical or vulvar cancer, at present does not modify the posterior therapeutic procedure and does not present any additional morbidity. In the future, the new imaging technologies, such as positron-emission tomography, would be compared with this pre- or intra-operative detection of sentinel lymph nodes to detect, prior treatment, the possibility of pelvic spread of cervical cancer. On the other hand, identification of the sentinel lymph node enables the pathologist to analyze the node with greater precision or to submit these nodes to immunostaining against cytokeratin or molecular quantification reverse-transcriptase PCR to identify micrometastasis.

In summary, sentinel node identification in early stage cervical cancer is feasible, either by open surgery or laparoscopic surgery. The four lymphatic node metastases found in three patients were all detected using the combination of technetium-99m-labeled nanocolloid and isosulfan blue dye. The use of both methods allowed 100% detection rate, and with a predictive negative value of 100%. However, further studies of lymphatic mapping in a larger series of patients are necessary to establish the clinical application of these techniques in the daily practice.

Acknowledgments

We are grateful to Sergio Monchón, MD, for suggestions on methodology and María Pulido, MD, for editing the manuscript and editorial assistance.

References

- Catalano RM. Anatomy and biopsy of sentinel lymph nodes. *Urol Clin North Am* 1992;19:267–76.
- Yonemori U, Figueiredo G, Galbraith V, Viale G, Ferrada B, Beckus M, et al. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet* 1997;349:1894–7.
- Mason BA, DeFinoade SE, Staudhoff MB, Caporaso W, Steiner M, Noss B, et al. Sentinel node identification and the ability to detect metastatic tumor in inguinal lymph nodes in squamous cell cancer of the vulva. *Gynecol Oncol* 2001;80:475–9.
- Magnus JE, Goodrich MA, Lubow TK, Weaver AJ, Cornella JL, Podratz KL. Modified radical hysterectomy in the treatment of early squamous cervical cancer. *Gynecol Oncol* 1999;72:181–6.
- Leib ML, Finns MA, Hoffman MS, Kline RC, Roberts WS, Finnsa IV. Detection of sentinel lymph node with lymphoscintigraphy in cervical, uterine, and vulvar malignancies. *South Med J* 1999;92:204–6.
- Mell M, Petron-Engl C, Schanz F, Vesely M, Sosaib P. First report of lymphatic mapping with technetium blue dye and sentinel node biopsy in cervical cancer. *Anticancer Res* 2000;20:1133–4.
- O'Byrne JD, Coleman RL, Perreault SG, Liffshitz S, Muller CV, Miller DB. Intraoperative lymphatic mapping in cervix cancer patients undergoing radical hysterectomy: a pilot study. *Gynecol Oncol* 2000;79:138–41.
- Mencall KS, Johnson N, Calvert S, Paul KR. Site specific lymph node metastasis in carcinoma of the cervix: is there a sentinel node? *Int J Gynecol Cancer* 2000;10:411–4.
- Dargent D, Marin X, Mathivet P. Laparoscopic assessment of sentinel lymph nodes in early stage cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2000;79:411–3.
- Verheijen RHM, Pijpers R, van Dieet PJ, Burger CW, Buntz ML, Kuznetsov P. Sentinel node detection in cervical cancer. *Obstet Gynecol* 2000;96:135–8.
- Mohr S, Krause N, Köhler C, Schneider A. Sentinel lymph node detection in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2001;80:254–7.
- Kern HS, Brady BS, Schuman FB, Madernpach LL, Clark WF, Suggs III CL, et al. Cisplatin, radiation, and adjuvant hysterectomy compared with radiation and adjuvant hysterectomy for bulky stage III cervical carcinoma. *N Engl J Med* 1999;340:1124–31.
- Levenback C, Coleman RL, Burke TW, Liu WM, Eifelson W, Derosa M, et al. Lymphatic mapping and sentinel node identification in patients with cervix cancer undergoing radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy. *J Clin Oncol* 2002;20:688–93.
- Lambrou E, Collinet P, Nardoni T, Sionaki Y, Papagorghi T, Carpentier F, et al. Laparoscopic identification of sentinel lymph nodes in early stage cervical cancer: prospective study using a combination of patent blue dye injection and technetium radiocolloid injection. *Gynecol Oncol* 2003;88:84–7.
- Van Dam PA, Haagsy J, Vandenbroucke T, Smeetsman H, Spaepen AM, Eggensma G, Dierx L, et al. Intraoperative sentinel node identification with technetium-99m labeled nanocolloid in patients with cancer of the uterine cervix: a feasibility study. *Int J Gynecol Cancer* 2003;13:185–6.
- Knapwith S, Pinciver M, Schneider A. Laparoscopic sentinel lymph node detection in patients with cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol* 2003;182:1648.
- Lattusch T, Wilms M, Grimm J, Meisler J, Buchmann J, Meitz G, et al. Sentinel node procedure in IB-cervical cancer: a preliminary series. *Int J Cancer* 2001;85:791–4.
- Hoskins RW, Granger R. Intraoperative decrease in pelvic venous flow following injection of isosulfan blue. *Can J Anaesth* 2001; 48:38–40.



Total laparoscopic radical hysterectomy with intraoperative sentinel node identification in patients with early invasive cervical cancer

Antonio Gil-Moreno^{a,*}, Berta Díaz-Feijoo^a, Isabel Roca^b, Oriol Puig^a,
María A. Pérez-Benavente^a, Ignacio Aguilar^a, José M. Martínez-Palones^a, Jordi Xercavins^a

^aUnit of Gynecologic Oncology, Department of Obstetrics and Gynecology, Hospital Materno-infantil Vall d'Hebron, Spain

^bService of Nuclear Medicine, Hospital General Vall d'Hebron, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, Spain

Received 20 June 2004

Abstract

Objectives. To describe the feasibility and results of total laparoscopic radical hysterectomy with intraoperative sentinel lymph node identification in patients with early cervical cancer.

Methods. Between March 2001 and October 2003, 12 patients with FIGO stage IA₂ ($n = 1$) or IB₁ ($n = 11$) cancer of the cervix underwent surgical treatment through the laparoscopic route. All patients underwent a laparoscopic sentinel node identification with preoperative lymphoscintigraphy (technetium-99 m colloid albumin injection around the tumor) and intraoperative lymphatic mapping with isosulfan blue dye and a laparoscopic gamma probe followed by systematic bilateral pelvic lymphadenectomy and laparoscopic type II ($n = 5$) or type III ($n = 7$) hysterectomy.

Results. A mean of 2.5 sentinel nodes per patient (range 1–4) was detected, with a mean of 2.33 nodes per patient by gamma probe and a mean of 2 per patient after blue injection (combined detection rate 100%). The most frequent localization of the nodes was the interiliac region. Histopathologic examination of sentinel nodes including cytokeratin immunohistochemical analysis did not show metastasis. Microscopic nodal metastases were not found. The mean number of resected pelvic nodes was 18.6 per patient (range 10–28). The operation was performed entirely by laparoscopy in all patients and no case of laparotomy conversion was recorded. The mean duration of operation was 271 min (range 235–300), with a mean blood loss of 445 mL (range 240–800), and a mean length of stay of 5.25 days (range 3–10). No major intraoperative complications occurred. After a median follow-up of 20 months (range 5–34), all patients are free of disease.

Conclusions. This study shows the feasibility of the combination of laparoscopic intraoperative sentinel node mapping and laparoscopic radical surgery in the context of minimally invasive surgery for the management of patients with early cervical cancer.

© 2004 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: Laparoscopic radical hysterectomy; Cervical cancer; Laparoscopic surgery; Pelvic lymphadenectomy; Sentinel lymph node; Surgical morbidity

Introduction

Lymph node status is a major prognostic factor for patients with cervical carcinoma and is a decision criterion for adjuvant therapy. The concept of sentinel node mapping

was proposed by Canabas for the management of patients with penile cancer using lymphangiograms performed via the dorsal lymphatics of the penis [1,2]. The sentinel lymph node is defined as the first draining lymph node of an anatomical region, so that a histologically negative sentinel lymph node would predict the absence of tumor metastases in the other non-sentinel lymph nodes. Detection of sentinel lymph node status has become accepted for melanoma and breast cancer [3–5] and is a promising staging technique for patients with vulvar cancer [6,7]. In patients with early cervical cancer, pelvic or paraaortic lymph node metastases are detected in only 8% of women

* Corresponding author. Unit of Gynecology Oncology, Department of Obstetrics and Gynecology, Hospital Materno-infantil Vall d'Hebron, Passeig Vall d'Hebron 119-129, E-08035 Barcelona, Spain. Fax: +34 93 4893039.

E-mail addresses: agil@cs.vhebron.es, antonioimma@yahoo.es (A. Gil-Moreno).

with stage IA₂ and in 26% of women with stage IIA no bulky [8]. Thus, many of these patients derive no benefit from pelvic lymphadenectomy. On the other hand, this procedure may increase morbidity, especially when postoperative radiotherapy is required. Intraoperative detection of sentinel lymph node status may have significant implications from a clinical management point of view. If the node is positive for tumor metastasis, a radical hysterectomy could be omitted, and adjuvant chemotherapy is commonly given [9–11].

Different studies have demonstrated the relevance of sentinel node identification using blue dye alone [12], radiocolloid alone [13], or a combination of the two reagents [9,10,14], with laparotomy [13,14] or using a laparoscopic procedure [9,10,11,12,14]; laparoscopy is associated with the potential benefits of decreased discomfort and shorter hospital stays.

Radical hysterectomy (class II or class III) [15] by the vaginal or the abdominal route is the surgical procedure used in treating women with cervical cancer. However, a vaginal [16] or a laparoscopic approach [10,14,17] in radical surgery for cervical carcinoma has been shown to be feasible in accordance with the standards of gynecologic oncology. The purpose of this study was to describe our initial experience with total laparoscopic radical hysterectomy for early cervical cancer (FIGO stages IA₂, IB₁, IIA no bulky) combined with laparoscopic intraoperative sentinel lymph node identification.

Patients and methods

Between March 2001 and October 2003, 12 nonconsecutive patients with FIGO stage IA₂ ($n = 1$) or IB₁ ($n = 11$) cancer of the cervix were candidates for total laparoscopic radical hysterectomy and intraoperative sentinel node identification. The diagnosis of cervical carcinoma was made either on cervical punch biopsy or after a cone biopsy. Intraoperative identification of sentinel lymph node was performed entirely by the laparoscopic route with preoperative lymphoscintigraphy (technetium-99 m-labeled nanocolloid) and intraoperative lymphatic mapping with isosulfan blue dye followed by systemic bilateral pelvic lymphadenectomy and radical hysterectomy by the laparoscopic approach. Patients were informed of risks and complications and provided written informed consent for possible need to convert to open surgery. Exclusion criteria for the sentinel node identification procedure were bulky disease which made injection in normal cervical tissue impossible and prior chemotherapy or pelvic radiotherapy. Inclusion criteria for total laparoscopic radical hysterectomy were a tumor size <4 cm and no evidence of node involvement in imaging studies (MRI scans). A body mass index (BMI) ≤ 35 kg/m² was also required. Patients at stage IA₂ and patients at stage IB₁ with size of the primary lesion ≤ 2 cm underwent a type II procedure, and patients at stage IB₁ with tumors measuring

>2 cm a type III procedure as defined by Piver et al. [15]. Combined general and epidural anesthesia was used in every case. Patients were administered perioperative antibiotics, cefazoline 2 g intravenously, and low molecular weight enoxaparin (40 mg/24 h subcutaneously).

Sentinel node identification procedure

The day before surgery, the cervix viewed with a speculum was superficially injected in each quadrant around the tumor at 3, 9, 6, and 12 o'clock positions with depots of technetium-99 m-labeled nanocolloid (Albu-res®, Pharmaceutical Nycomed Amersham, Bruunschweig, Germany), each containing approximately 10 mBq of tracer in 0.2 mL saline, using a 27-gauge hypodermic needle. Immediately after injection and removal of the speculum, dynamic lymphoscintigraphy was performed using a gamma camera. Additional static images were taken after the dynamic study and about 2–3 h after injection to identify the sentinel node. At the time of surgery, after induction of general anesthesia and speculum viewing of the cervix, approximately 2–4 mL of isosulfan blue dye (Lymphazurin 1%, US Surgical Co., Norwalk, CT) was injected superficially around the tumor at the same locations as the tracer (depth of injection 0.5–1 cm).

For the laparoscopic procedure, a four-trocar transperitoneal approach was used. The laparoscope was introduced via an 11-mm umbilical trocar with a direct-puncture technique, and three other trocars were inserted with the patient in a 25° to 30° Trendelenburg position. Two accessory 12- and 5-mm trocars were then placed under direct visualization in the iliac fossae, and one 5-mm accessory trocar at the midline between the umbilicus and the left subcostal margin. The abdominal cavity was inspected and the retroperitoneal spaces were opened. The sentinel node was detected using a laparoscopic gamma probe Navigator® (AutoSuture, Norwalk, CT) or Neoprobe® (Ethicon Endo-Surgery, Cincinnati, OH). Nodal tissue was examined visually for blue staining (Fig. 1) and audible signs above background. If count were at least 10-fold above background levels, the node was considered sentinel. Sentinel nodes were labeled as blue, hot (radioactive), or blue/hot. All sentinel nodes were recorded by their relative position to the major pelvic vessels. Each blue and/or hot lymph node was removed separately in endoscopic bags (Endo-Catch Gold 10 mm, AutoSuture, Norwalk, CT) and submitted for pathologic examination.

Systematic, laparoscopic, bilateral pelvic lymphadenectomy from the common iliac artery to the inferior boundary of the circumflex iliac vein was performed after the sentinel node procedure (Fig. 2).

Laparoscopic radical hysterectomy

With the same disposition of the four trocars, the paravesical, pararectal, rectovaginal, and vesicovaginal spaces were developed, thereby delineating the uterosacral



Fig. 1. Identification of a blue-positive sentinel lymph node.

ligaments and the parametria. Uterine vessels were identified and cut at their origin from the hypogastric vessels with vascular clips in the first cases and using the harmonic scalpel (Ultracision Harmonic Scalpel, Ethicon Endo-Surgery) more recently. The parametrial tissue and the uterosacral ligaments were transected with the Endo-GIA stapler (ATW35, TSB45 Endo-Path, Ethicon Endo-Surgery) in the first cases and using the harmonic scalpel more recently. In patients in which ovarian function was maintained, the ovaries were transposed laterally to the paracolic gutters and fixed securely to the abdominal wall. Dissection of the ureteral tunnel, urinary bladder, and ureteral separation was accomplished with monopolar coagulation using a blunt dissector and with the aid of the Ultracision. Resection of the proximal paracervical tissues was performed with the flexible Endo-GIA stapler or the harmonic scalpel. At the point, the vaginal fornices were

encountered bilaterally, the vagina was transected with monopolar coagulation, and the specimen was removed vaginally (Fig. 3). The vaginal cuff was then closed laparoscopically with 2–0 polyglactin (Vicryl, Ethicon GmbH) continuous suture, using the KOH colpotomizer (CooperSurgical, Trumbull, CT) for obturation of the vagina to avoid pneumoperitoneum air leakage (Fig. 4). After completing the vaginal procedure, we checked for hemostasis and intact ureters, and the peritoneal cavity was thoroughly irrigated and lavaged. A suprapubic catheter was placed. The catheter was maintained until residual urine volumes <100 mL were regularly obtained for a minimum of 2 weeks (range 2–7 weeks).

Pathological evaluation

Sentinel lymph nodes were visually inspected by the pathologist. If gross metastatic disease was visible, simple sections were submitted. Normal-appearing sentinel nodes were cut perpendicularly to the long axis (one slide per each 0.2-mm section) and submitted for routine hematoxylin and eosin (H&E) staining. Negative H&E sections were prepared for wide spectrum cytokeratin immunohistochemical analysis (CK-88).

Data of each individual patient were registered prospectively using an Access and Excel database (Microsoft Inc.).

Results

Patients had a mean age of 43 years (range 35–57), with a mean weight of 61 kg (range 49–75 kg), and mean BMI of 24.9 kg/m² (range 20–35 kg/m²). History of previous surgery was recorded in two patients (cesarean section in 1, laparoscopic tubal ligation in 1). None of the patients had



Fig. 2. Left pelvic lymphadenectomy. External iliac artery, 1; external iliac vein, 2; internal iliac artery, 3; obturator nerve, 4; genitofemoral nerve, 5; uterine artery, 6.



Fig. 3. Surgical specimen after total laparoscopic radical hysterectomy.

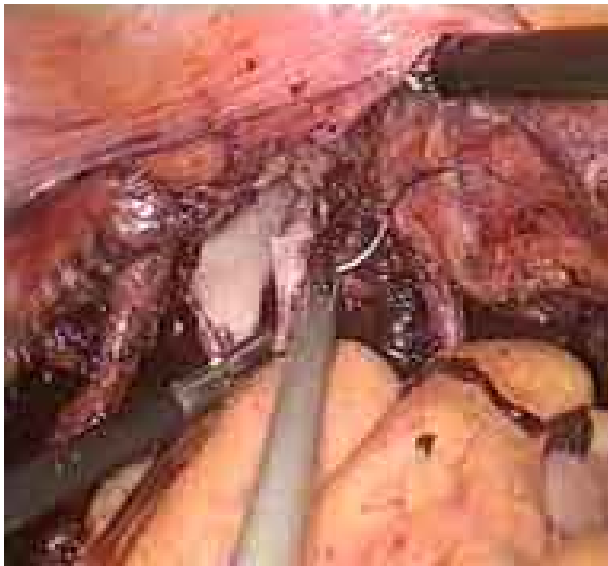


Fig. 4. Suture of the vaginal cuff through the laparoscopic route.

MRI evidence of lymph node involvement. Histological types included squamous cell carcinoma in 67% of patients and adenocarcinoma in 33%. Vascular invasion was found in five patients. The surgical margins were free of disease in all cases. The mean tumor size in patients with FIGO stage IB₁ was 2.36 cm. Clinical, intraoperative, and pathologic characteristics of the study population are presented in Table 1.

The operation was performed entirely by laparoscopy in all patients (type II hysterectomy, $n = 5$; type III hysterectomy, $n = 7$) and no patient required conversion to laparotomy. Ovarian transposition was performed in eight premenopausal patients. The mean duration of operation was 271 min (range 235–300 min). The mean intraoperative blood loss was 445 mL (range 240–800 mL). The mean length of hospital stay was 5.25 days (range 3–10 days).

There were no intraoperative complications. Early postoperative complications occurred in two patients and included urinary tract infection in one and blood transfusion in a patient with postoperative symptoms of anemia and a serum hemoglobin concentration of 8 g/dL. Late postoperative complications occurred in only one patient with bladder dysfunction, who had voiding difficulty and required intermittent catheterization. This patient with bladder dysfunction had undergone a type III hysterectomy.

The sentinel node procedure used patent blue and radioactive colloid in nine patients and only blue dye in the remaining three patients for technical reasons (unavailability of the endoscopic gamma probe at that moment). No technical failures with radioisotopic or patent blue labeling occurred. A total of 20 sentinel lymph nodes were detected by lymphoscintigraphy preoperatively (mean 2.22 nodes per patient, range 1–4). Location of nodes included the interiliac region in 60% of cases, obturator basin in 15%, common iliac in 10%, external iliac in 10%, and left

presacral area in 5%. A total of 21 hot sentinel lymph nodes were detected by laparoscopy (mean 2.33 nodes per patient, range 1–4). Location of nodes included the interiliac region in 57% of cases, external iliac in 19%, obturator in 14%, common iliac in 5%, and the presacral space in 5%. A total of 24 blue sentinel nodes were detected (mean 2 nodes per patient, range 1–4). Location of nodes included the interiliac region in 58% of cases, obturator in 17%, right external iliac in 12.5%, common iliac in 4%, right parametrium in 4%, and left presacral area in 4%. No allergic reactions to blue dye occurred. Methods of identification of sentinel lymph nodes by nodal location are shown in Table 2. Combining the blue dye and radionuclide localization technique, a total of 30 lymph nodes were identified as sentinel in 12 patients was 30 (mean 2.5 nodes per patient, range 1–4). No allergic reactions to blue dye occurred. Transient decrease in oxygen saturation as measured by pulse oximetry was noted in seven patients.

After completing pelvic lymphadenectomy and para-aortic lymphadenectomy that was performed in one patient due to suspicion of macroscopically involved pelvic nodes, a total of 218 nodes including the 30 sentinel nodes were obtained, with a mean of 18.6 nodes per patient (range 10–28).

The rate of sentinel node identification with the combination of blue dye and technetium-99 m radiocolloid was 100%. No positive sentinel nodes by H&E and cytokeratin immunohistochemical analysis were found. The remaining nodes were histologically negative.

Two patients received concomitant radiochemotherapy due to deep stromal and lymphovascular involvement.

Table 1

Clinical, intraoperative, and pathologic data in 12 patients with early stage cervical cancer

Characteristic	No. of patients	%
Diagnostic method		
Directed biopsy	5	41.7
Conization	7	58.3
Stage		
IA ₂	1	8.4
IB ₁	11	91.6
Histology		
Squamous	8	66.7
Adenocarcinoma	4	33.3
Grade		
I	2	16.7
II	7	58.3
III	3	25.0
Vascular invasion		
Present	5	41.6
Previous abdominal surgery	2	16.6
Type of radical hysterectomy		
II	5	41.7
III	7	58.3
Ovarian transposition	8	66.7
Duration of operation, min, mean	271	range 235 to 300
Blood loss, mL, mean	445	range 240 to 800
Length of stay, days, mean	5.25	range 3 to 10

Table 2
identification of sentinel lymph nodes and nodal location

Technique	No. of nodes	%
Preoperative lymphoscintigraphy	20	
Right interiliac	7	35
Left interiliac	5	25
Left obturator basin	2	10
Left common iliac	2	10
Right external iliac	2	10
Right obturator basin	1	5
Left presacral region	1	5
Technetium-99 m colloid albumin	21	
Right interiliac	7	33
Left interiliac	5	23.8
Right external iliac	3	14.2
Left obturator basin	2	9.5
Left common iliac	1	4.8
Right obturator basin	1	4.8
Left external iliac	1	4.8
Left presacral region	1	4.8
Isosulfan blue dye	24	
Right interiliac	8	33.3
Left interiliac	6	25
Left obturator basin	2	8.3
Right obturator basin	2	8.3
Right external iliac	2	8.3
Left external iliac	1	4.2
Left common iliac	1	4.2
Right parametrium	1	4.2
Left presacral region	1	4.2

The median follow-up was 20 months (range 5–34 months). All patients are doing well and showed no signs of recurrent malignancy.

Discussion

Laparoscopic surgery in the treatment of early stage cervical cancer reduces the morbidity of conventional treatments without compromising the degree of oncological radicality required. Additionally, laparoscopy can spare a laparotomy in early-stage node-negative patients [18]. The

current study demonstrates the feasibility and safety of a laparoscopic procedure based on detection of the sentinel lymph node with isosulfan blue dye and technetium-99 m-labeled nanocolloid followed by pelvic lymphadenectomy and radical hysterectomy. The combined use of patent blue and a radiocolloid identified sentinel lymph nodes in 100% of patients. In the series of 35 patients reported by Dargent et al. [12] using patent blue violet only, failure of the technique in 14.5% of the cases was attributed to an insufficient quantity of injected blue dye. Kamprath et al. [19] investigated the validity of laparoscopic sentinel lymph node detection after radioactive isotope injection in patients with early cervical cancer and reported a detection rate of 88.8%. In other series using blue dye injection and radioactive isotope, the detection rate was 91.7% in 12 patients reported by Lambaudie et al. [9], 92% in 13 patients reported by Barranger et al. [10]. Malur et al. [20], in 50 patients, showed a detection rate of 90% for the combination of blue dye and radioactive isotope, with 55.5% and 76.2% for blue dye and radiolabeled albumin, respectively. Buist et al. [21], in 25 patients, obtained a 100% detection rate with the combined technique, and Plante et al. [11], in the largest series of 70 patients published in literature of laparoscopic sentinel node mapping, demonstrated a detection rate of 87% with the blue dye technique alone increasing to 93% with adding lymphoscintigraphy (Table 3).

In the present study, no patient had nodal involvement but our data set is small ($n = 12$). Taking into account that lymph node metastasis in early stage cervical cancer varies between 8% and 26% [8], a sample size of at least 400 patients would be necessary to obtain a negative predictive value of 100% with a significance level of less than 0.05. The only false-negative cases reported in the literature was one patient with microscopically positive parametrial nodes that were resected in continuity with the uterus in the series of 39 patients reported by Levenback et al. [13], one patient with two false-negative sentinel nodes in the obturator fossa in the group of 25 patients reported by Buist et al. [21], and one of 50 patients in the study of Malur et al. [20].

Table 3
Intraoperative detection of sentinel node in patients with early cervical cancer

Author, year	No. patients	FIGO stage	Tc-99 m	Blue dye	Detection rate %	Sentinel nodes, mean	False negative rate	Radical hysterectomy
Dargent et al. [12]	35	IA ₂ –IB ₁ –IB ₂	No	Yes	85.5	1.68	0	Schauta or trachelectomy
Kamprath et al. [19]	18	I–II	Yes	No	88.8	2.1	0	Trachelectomy or LAVRH
Malur et al. [20]	46	I–II–IV	Yes	Yes	90	2	1 (16.6%)	Radical hysterectomy, abdominal or LAVRH or exenteration
Lambaudie et al. [9]	12	IA ₂ –IB ₁	Yes	No	91.7	2.92	0	Radical abdominal hysterectomy
Barranger et al. [10]	13	IA ₂ –IB–IIA	Yes	Yes	92	1.7	0	Schauta or radical laparoscopic hysterectomy
Buist et al. [21]	25	IB ₁ , IB ₂ , IIA	Yes	Yes	100	2.2	1 (11%)	Radical abdominal hysterectomy
Plante et al. [11]	70	IA–IB–IIA	Yes	Yes	87 (93)	1.9	0	Radical abdominal or laparoscopic hysterectomy or trachelectomy
Current study	12	IA ₂ –IB ₁	Yes	Yes	100	2.5	0	Radical laparoscopic hysterectomy

Comparison of our results according to literature.

LAVRH: laparoscopic-assisted vaginal radical hysterectomy.

In the current series, after laparoscopic sentinel node identification with blue dye and radiolabeled albumin injection, patients underwent laparoscopic pelvic lymphadenectomy and types II and III radical hysterectomy (5 and 7 patients, respectively). There is only a previous report in which 13 women underwent laparoscopic sentinel node detection with a combination of radiocolloid and patent blue followed by complete laparoscopic pelvic lymphadenectomy and either laparoscopic radical hysterectomy or the Schauta-Amreich operation [10]. The laparoscopic route avoids the Schuchardt incision during radical vaginal hysterectomy [22]. On the other hand, laparoscopic radical hysterectomy has the potential for decreased perioperative and postoperative morbidity, less blood loss, better cosmetic results, and faster recuperation [23]. Radical hysterectomy and lymph node dissection can be accomplished with any number of approaches, although it may be argued that the most important element is not the incision size of the instrumentation but rather surgical expertise. Some authors have cautioned that laparoscopic radical hysterectomy should be reserved for oncologic surgeons trained in extensive laparoscopic procedures [24,25]. However, in addition to the technical feasibility of total laparoscopic radical hysterectomy, this study demonstrates the safety of the procedure, even during the learning phase of the technique. The operative time was somewhat longer, although the identification of the sentinel lymph node accounted for an increased duration of operation. On the other hand, the laparoscopic route is associated with an important decrease of the length of stay in hospital [22,24,25]. Our mean length of stay of 5.25 days is also shorter than duration of hospitalization in other series of laparoscopic-assisted vaginal hysterectomy [26].

No intraoperative complications occurred. The average intraoperative blood loss was 445 mL and only one patient required blood transfusion because of postoperative symptoms of anemia and a hemoglobin level of 8 g/dL. Historically, the likelihood of perioperative transfusion for abdominal radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy was 40–80% [27,28]. Laparoscopy under magnification of small blood vessels provided by the current optical systems minimizes intraoperative blood loss. Endoscopic Endo-GIA staplers allowed excellent hemostasis and were used in the early period in our patients for the resection of uterosacral and cardinal ligaments and paracervical tissue. However, since the use of the harmonic scalpel, we believe that hemostasis has even improved, with the advantage of not leaving foreign bodies (surgical staples) in the abdominal cavity and the reduction in the number of large 12-mm cannulas inserted. In our technique, only four trocars were inserted in somewhat different places than other surgeons that used the five-trocar approach [17,24,25].

A case of bladder dysfunction in a patient who underwent a type III procedure was the only late complication recorded. Functional urologic complications of radical hysterectomy are related to radicality of the procedure, independently of the

surgical approach, and are observed in 15–20% of distal and in 3% of proximal hysterectomies [18,29]. In this respect, the use of a suprapubic catheter for the assessment of residual urine volumes during the postoperative period will allow to reduce the cases of bladder atony and even later bladder dysfunction with a low morbidity for the patient as suggested by other authors [17,30]. Port-site disease or intraperitoneal tumor spread following minimal-access surgery has been reported [31–33] mostly in patients with adenocarcinomas, locally advanced cancer stages, and positive pelvic nodes. In our study, like others [22,24], all nodal tissue was retrieved in an endopouch to avoid contact with the anterior abdominal wall and the orifices were thoroughly irrigated before suture.

This study shows the feasibility of the combination of laparoscopic intraoperative sentinel node mapping and laparoscopic radical surgery in the context of minimally invasive surgery for the management of patients with early cervical cancer, although larger series and prospective randomized studies are necessary to evaluate the clinical validity of this method.

Acknowledgments

We thank Marta Pulido, MD for editing the manuscript and editorial assistance.

References

- [1] Cabanas RM. An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 1977;39:456–66.
- [2] Cabanas RM. Anatomy and biopsy of sentinel lymph nodes. *Urol Clin North Am* 1992;19:267–76.
- [3] Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, et al. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992;127:392–9.
- [4] Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for melanoma: past, present, and future. *Ann Surg Oncol* 2001; 8(Suppl. 9):22S–8S.
- [5] Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V, Viale G, Zurrida S, Bedomi M, et al. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet* 1997;349:1864–7.
- [6] Levenback C, Burke TW, Gershenson DM, Morris M, Malpica A, Ross MI. Intraoperative lymphatic mapping for vulvar cancer. *Obstet Gynecol* 1994;84:163–7.
- [7] Echt ML, Finan MA, Hoffman MS, Kline RC, Roberts WS, Fiorica JV. Detection of sentinel lymph node with lymphazurin in cervical, uterine, and vulvar malignancies. *South Med J* 1999;92:204–8.
- [8] Benedet JL, Odicino F, Maisonneuve P, Beller U, Creasman WT, Heintz AP, et al. Carcinoma of the cervix uteri. *J Epidemiol Biostat* 2001;6:7–43.
- [9] Lambaudie E, Collinet P, Narducci F, Sonoda Y, Papageorgiou T, Carpentier P, et al. Laparoscopic identification of sentinel lymph nodes in early stage cervical cancer: prospective study using a combination of patent blue dye injection and technetium radiocolloid injection. *Gynecol Oncol* 2003;89:84–7.
- [10] Barranger E, Grahek D, Cortez A, Talbot JN, Uzan S, Darai E. Laparoscopic sentinel lymph node procedure using a combination of patent blue and radioisotope in women with cervical carcinoma. *Cancer* 2003;97:3003–9.

- [11] Plante M, Renaud MC, Tetu B, Harel F, Roy M. Laparoscopic sentinel node mapping in early-stage cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2003;91:494–503.
- [12] Dargent D, Martin X, Mathevet P. Laparoscopic assessment of sentinel lymph node in early stage cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2000;79:411–5.
- [13] Levenback C, Coleman RL, Burke TW, Lin WM, Erdman W, Deavers M, et al. Lymphatic mapping and sentinel node identification in patients with cervix cancer undergoing radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy. *J Clin Oncol* 2002;20:688–93.
- [14] Martínez-Palones JM, Gil-Moreno A, Pérez-Benavente A, Roca I, Xercavins J. Intraoperative sentinel node identification in early stage cervical cancer using a combination of radiolabeled albumin injection and isosulfan blue dye injection. *Gynecol Oncol* 2004;92:845–50.
- [15] Piver MS, Rutledge F, Smith JP. Five classes of extended hysterectomy for women with cervical cancer. *Obstet Gynecol* 1974;44:265–72.
- [16] Querleu D. Laparoscopically assisted radical vaginal hysterectomy. *Gynecol Oncol* 1993;51:248–54.
- [17] Spirtos NM, Eisenkop SM, Schlaerth JB, Ballon SC. Laparoscopic radical hysterectomy (type III) with aortic and pelvic lymphadenectomy in patients with stage I cervical cancer: surgical morbidity and intermediate follow-up. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:340–8.
- [18] Leblanc E, Querleu D, Castelain B, Ocelli B, Chauvet MP, Chevalier A, et al. Rôle de la coelioscopie dans la prise en charge des cancers du col utérin. *Cancer Radiother* 2000;4:113–21.
- [19] Kamprath S, Possover M, Schneider A. Laparoscopic sentinel lymph node detection in patients with cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:1648.
- [20] Malur S, Krause N, Köhler C, Schneider A. Sentinel lymph node detection in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2001;80:254–7.
- [21] Buist MR, Pijpers RJ, van Lingen A, van Diest PJ, Dijkstra J, Kenemans P, et al. Laparoscopic detection of sentinel lymph nodes followed by lymph node dissection in patients with early stage cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2003;90:290–6.
- [22] Hsieh YY, Lin WC, Chang CC, Yeh LS, Hsu YT, Tsai HD. Laparoscopic radical hysterectomy with low paraaortic, subaortic and pelvic lymphadenectomy. Results of short-term follow-up. *J Reprod Med* 1998;43:528–34.
- [23] Dottino PR, Tobias DH, Beddoe A, Golden AL, Cohen CJ. Laparoscopic lymphadenectomy for gynecologic malignancies. *Gynecol Oncol* 1999;73:383–8.
- [24] Lee CL, Huang KG. Total laparoscopic radical hysterectomy using Lee-Huang portal and McCartney transvaginal tube. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 2002;9:536–40.
- [25] Abu-Rustum NR, Gemignani ML, Moore K, Sonoda Y, Venkatraman C, Brown C, et al. Total laparoscopic radical hysterectomy with pelvic lymphadenectomy using the argon-beam coagulator: pilot data and comparison to laparotomy. *Gynecol Oncol* 2003;91:402–9.
- [26] Malur S, Possover A, Schneider A. Laparoscopically assisted radical vaginal vs. radical abdominal hysterectomy type II in patients with cervical cancer. *Surg Endosc* 2001;15:289–92.
- [27] Eisenkop SM, Spirtos NM, Montag TW, Moossazadeh J, Warren P, Hendrickson M. The clinical significance of blood transfusion at the time of radical hysterectomy. *Obstet Gynecol* 1990;76:110–3.
- [28] Benjamin I, Barakat RR, Curtin JP, Jones WB, Lewis Jr JL, Hoskins WJ. Blood transfusion for radical hysterectomy before and after the discovery of transfusion-related human immunodeficiency virus infection. *Obstet Gynecol* 1994;84:974–8.
- [29] Lee CL, Huang KG, Jain S, Lee PS, Soong YK. Comparison of laparoscopic and conventional surgery in the treatment of early cervical cancer. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 2002;9:481–7.
- [30] Nezhat CR, Burrell MO, Nezhat FR, Benigno BB, Welander CE. Laparoscopic radical hysterectomy with paraaortic and pelvic node dissection. *Am J Obstet Gynecol* 1992;166:864–5.
- [31] Lane G, Tay J. Port-site metastasis following laparoscopic lymphadenectomy for adenosquamous carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1999;74:130–3.
- [32] Childers JM, Aqua KA, Surwitt EA, Hallum AV, Hatch KD. Abdominal-wall tumor implantation after laparoscopy for malignant conditions. *Obstet Gynecol* 1994;84:765–9.
- [33] Cohn DE, Tamimi HK, Goff BA. Intraoperative spread of cervical carcinoma after laparoscopic lymphadenectomy. *Obstet Gynecol* 1997;89:864.

Case Report

Umbilical metastasis after laparoscopic retroperitoneal paraaortic lymphadenectomy for cervical cancer: a true port-site metastasis?

José M. Martínez-Palones^a, Antonio Gil-Moreno^b, María A. Pérez-Benavente^a,
A. García-Giménez^b, Jordi Xercavins^{a,*}

^aDepartment of Obstetrics and Gynecology, Unit of Gynecologic Oncology, Hospital Marqués de Valdecaballeros, Paseo Vall d'Hebron 119–120, E-08035 Barcelona, Spain

^bDepartment of Pathology, Hospital General Vall d'Hebron, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, Spain

Received 3 September 2004

Abstract

Background. We present a case of umbilical metastasis after laparoscopic retroperitoneal paraaortic lymphadenectomy for cervical cancer.

Case. A 59-year-old woman with stage IIIB cervical adenocarcinoma underwent laparoscopic paraaortic lymphadenectomy as well as a conventional laparoscopy to assess the presence of peritoneal carcinomatosis. The pathologic examination revealed metastasis in one paraaortic node. Peritoneal cytology proved negative for malignant cells. Seven months after completion of chemoradiotherapy, the patient presented a 2.5-cm umbilical tumor involving the trocar tract together with recurrence of the cervical mass. Histological examination of the excised umbilical mass showed recurrence of the cervical adenocarcinoma, with strong peritumoral CD31 immunocytochemical expression.

Conclusion. The peritumoral increase in microvessel density and strong CD31 positivity suggests angiogenesis as a potential factor lead to seeding of tumor cells at the umbilical port.

© 2005 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: Port-site metastasis; Paraaortic lymphadenectomy; Retroperitoneal laparoscopy; Angiogenesis; Cervical carcinoma

Introduction

Port-site metastases following laparoscopic surgery for gynecologic cancer are uncommon. The estimated incidence for port-site metastases in all patients undergoing laparoscopic surgery for malignant disease is approximately 1–2%. A number of possible mechanisms for port-site recurrences have been recently reviewed by Ramirez et al. [1], including wound implantation caused by the surgical technique and instrumentation, the leakage of insufflation gas through the port, and disturbed immune function within the peritoneal cavity. Moreover, hypoxia and subsequent acidosis of the fat tissue in the trocar site after laparoscopy can induce an angiogenic process [2,3] which seems to play an important role in tumor progression. We report the first

case of umbilical metastasis after laparoscopic retroperitoneal paraaortic lymphadenectomy for cervical cancer.

Case history

A 59-year-old woman, gravida 2, presented with postmenopausal bleeding, lower abdominal pain, and postcoital spotting for 2 months. Colposcopy revealed a cervical mass of approximately 4 cm with clinically bilateral parametrial involvement and a biopsy was reported as poorly differentiated adenocarcinoma. An intravenous pyelogram showed ureterohydronephrosis (stage III B) with normal renal function. There was no involvement of the bladder or the rectum. A magnetic resonance imaging (MRI) scan of the abdomen and pelvis showed a posterior cervical lip tumor (4.5 × 4 × 4 cm) and involvement of both parametrial regions but no pelvic or intraabdominal disease.

* Corresponding author. Fax: +34 93 4603608.

E-mail address: jxercavins@hgvalldebarcelona.es (J. Xercavins).

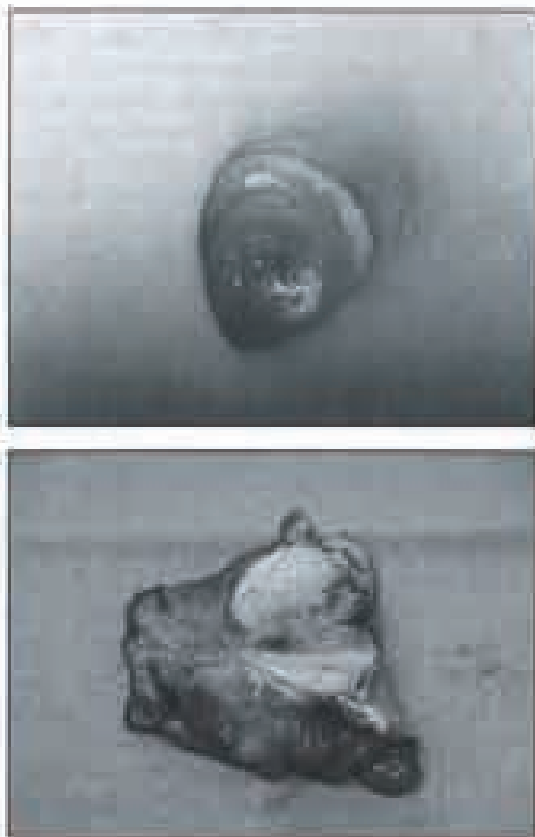


Fig. 1. Umbilical mass (upper) and gross appearance of the resected tumor (lower).

A conventional abdominal transperitoneal laparoscopy was performed to assess the presence of peritoneal carcinomatosis using two trocars of 11 and 3 mm, placed at the umbilicus and the right iliac fossa, respectively. Thereafter, the patient underwent retroperitoneal laparoscopic paraortic lymphadenectomy during the same surgi-

cal procedure. Three trocars were used: one 11-mm trocar was inserted 2 cm above the left anterior superior iliac spine and the other two (11 mm and 3 mm) were placed at the level of the left axillary midline. In both laparoscopic procedures, CO₂ was insufflated at 12 mm Hg pressure. The lymph nodes were extracted using a protective bag. Cytology of peritoneal washings proved negative for malignant cells. Lymph nodes were studied histologically with hematoxylin and eosin staining and with immunohistochemistry for cytokeratin in order to detect micrometastasis. Microscopic examination revealed metastasis in one of the 10 paraortic lymph nodes removed. The patient was treated with four cycles of weekly cisplatin (40 mg/m²) and external beam radiotherapy using high-energy photons to the whole pelvis and the paraortic region with a total dose 45 Gy followed by cesium needle interstitial implantation with a dose of 30 Gy, and a posterior parametrial boost dose of 9 Gy. The sites at which trocars were placed were included in the radiation field.

She remained free of disease for 7 months when she presented a 2.5-cm umbilical mass and an enlarged cervix. Cervical cytology was positive for adenocarcinoma. The umbilical mass was excised (Fig. 1). Primary closure was achieved using a Marlex mesh. Histologic examination showed an invasive poorly differentiated adenocarcinoma that included the peritoneum and the skin with tumor-free margins. Peritumoral increase in microvessel density (MVD) (Fig. 2) and strong CD31 immunocytochemical expression (Fig. 3) was observed. The patient refused palliative chemotherapy.

Discussion

The risk of tumor implantation in the trocar site in patients with disseminated intraperitoneal cancer under-

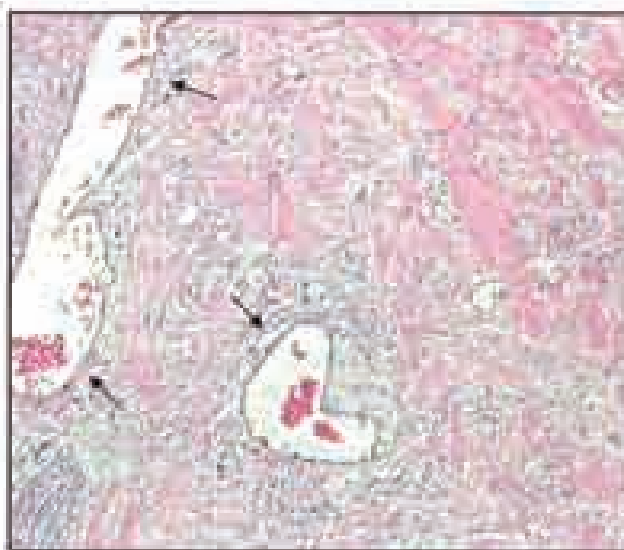


Fig. 2. Light microscopy demonstrating microvessel density (arrows), chondrocytes and tumor ($\times 100$).

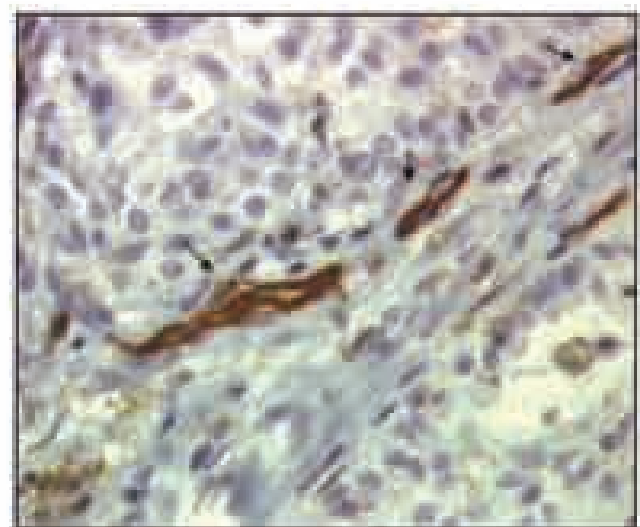


Fig. 3. Light microscopy demonstrating immunohistochemical staining with CD31 (arrows) ($\times 400$).

going laparoscopic surgery has been highlighted in numerous reports. However, port-site metastases after laparoscopic surgery for malignancies, including ovarian, endometrial, gastrointestinal, and cervical cancers without peritoneal carcinomatosis have also been described [4]. Lavie et al. [5] in 1999, presented a case report of port-site metastases in the absence of spread beyond the primary tumor in a patient with stage IA1 adenocarcinoma of the cervix treated with laparoscopically assisted vaginal hysterectomy, bilateral salpingo-oophorectomy, and bilateral pelvic node dissection. Lane et al. [6] reported a case of adenosquamous cancer of the cervix which spread to a port site following removal of involved pelvic nodes and which was the only site of recurrence. Kohlberger et al. [7] also reported a case of port-site metastasis in a patient with stage IB squamous cell carcinoma of the cervix with negative lymph nodes. In the present case, the umbilical metastasis developed in the trocar site of a conventional transperitoneal laparoscopy without evidence of disseminated intraperitoneal cancer in a patient with poorly differentiated cervical adenocarcinoma who simultaneously underwent laparoscopic paraortic lymphadenectomy before chemotherapy. The lymph nodes were excised adequately using a protective bag and there was no manipulation of the cervix at the time of surgery. The umbilical mass developed some months after surgery, the cause of which is unclear. It is difficult to determine whether the umbilical tumor was a distant metastasis or a true port-site metastasis.

A number of mechanisms have been proposed for the development of port-site metastases. With regard to hematogenous spread, only 1% of cells that reach the general circulation survive, and only 0.1% of them are able to induce metastasis [1]. Direct wound contamination and implantation would explain the cause of port-site metastasis. The instruments used could become contaminated with malignant cells and then contaminate the port site during extraction of the surgical specimen. In an interesting experiment, Raymond et al. [4] detected tumor cells in trocars and instrument washings during 12 staging laparoscopies for pancreatic cancer. However, given that standard precautions including the use of protective bags to retrieve tumor and nodes are routinely used and the fact that metastases have been documented at ports that are not used to manipulate the surgical specimens, such as in the case here reported, it seems that wound contamination may not be the single definitive cause of port-site metastases.

It has been suggested that CO₂ gas is one of the major factors leading to port-site metastases but the concept that gasless laparoscopy may reduce the rate of port-site recurrences has been challenged by several studies. Iwanaka et al. [8] found no difference in the rate of port-site recurrences between gasless laparoscopy and conventional laparoscopy. Lecuru et al. [9] used intraperitoneal injection of two ovarian cancer cell lines in nude rats and showed that CO₂ pneumoperitoneum had no deleterious effect on tumor growth when compared to gasless laparoscopy or midline

laparotomy. In an ovarian cancer model, Agostini et al. [10] assessed the effect of CO₂ pneumoperitoneum on tumor dissemination and found that tumor dissemination was not influenced by gas pressure or duration of procedure. However, pneumoperitoneum can cause diffuse damage of the mesothelial cell layer. On the other hand, "the chimney effect" that refers to increase in the number of tumor cells at the port sites caused by leakage of gas along the trocars can be prevented by correct trocar fixation and deflation of the abdomen with the trocars in place.

Surgical trauma and local immune reaction may play a role in the development of laparoscopic port-site metastases. It has been suggested that failure of activation of the immune system encourages port-site recurrences. Neuhaus et al. [11] evaluated the effects of immune modulation in 18 rats treated with cyclosporin (immune suppressor) or intraperitoneal endotoxin (immune enhancer) and showed that tumor growth and port-site metastases were less common following administration of intraperitoneal endotoxin. Yamaguchi et al. [12] studied whether CO₂ pneumoperitoneum caused an increase in hyaluronic acid secreted from mesothelial cells and subsequently increased the risk of port-site metastases. The authors concluded that hyaluronic acid caused adhesions between cancer cells and mesothelial cells, and might be associated with the formation of port-site metastases after laparoscopic surgery.

Additionally, the surgeon involved in the procedure and the surgical technique has been proposed as the most important factors influencing the outcome. The repeated removal and reintroduction of trocars may significantly traumatized tissue at the trocar site. Protective measures to decrease the incidence of tumor cell spread include trocar fixation, prevention of gas leaks, rinsing instruments and trocars before removal with povidine-iodine, and peritoneal closure. Van Dam et al. [13] in 104 patients with advanced or recurrent ovarian cancer undergoing laparoscopy reported tumor recurrence in 58% of cases with only skin suture compared to 2% with suture of all layers. Agostini et al. [14] showed that the incidence of port-site metastases was 58% when the peritoneum was not closed compared with 14% when the peritoneum was sutured closed.

Finally, in relation to the possible tumor-host interaction, hypoxia that is always present in the abdominal wound and subsequent acidosis of the soft tissue may promote tumor progression as it induces the expression of interleukin-8 (IL-8), which in turn is an important molecule identified in the regulation of angiogenesis through the vascular endothelial growth factor (VEGF) [2]. Angiogenesis can be assessed by microvessel count per high-power microscopic field to determine microvascular density. To identify these endothelial cells, most studies have used factor VIII-related antigen but the newer markers, such as CD34 and CD31, are more sensitive. In the case here presented, an increased in MVD around the tumor was found (we counted not only the microvessels but also the groups of endothelial cells that are in the process of capillary formation) in association with a

strong CD31 positivity. According to these findings, angiogenesis appears as a plausible mechanism promoting umbilical tumor recurrence. Metastasis to laparoscopic ports of the retroperitoneal approach is unlikely because recurrence of pelvic disease occurred inside the peritoneal cavity. On the other hand, port-site metastasis, secondary to transperitoneal laparoscopy, is more probable at site of 11-mm trocar than the 5-mm trocar due to the larger and unassured wound. Accordingly, after implantation of cancer cells through the peritoneal defect of the 11-mm trocar tract into injured adipose tissue, the angiogenic potential was increased with subsequent progression of the tumor recurrence.

In summary, we present the first case of umbilical metastasis after laparoscopic retroperitoneal paraaortic lymphadenectomy for cervical cancer in a patient without evidence of disseminated intraperitoneal cancer. The peritoneal increase in microvessel density and the strong CD31 immunohistochemical positivity suggests angiogenesis as a potential factor lead to seeding of tumor cells at the umbilical port. However, further studies of this event and more available data would be necessary in order to confirm this hypothesis.

Acknowledgments

We thank Marta Palido, MD, for editing the manuscript and editorial assistance. The authors express their gratitude to G. Puig-Puig MD and B. Diaz-Fezoo MD for the help in the discussion of this case report.

References

- [1] Bastiani PT, Wolf DL, Lavretzback C. Laparoscopic port-site metastasis: etiology and prevention. *Gynecol Oncol* 2003;91:179–88.
- [2] Abulafia O, Triest WE, Shover DM. Angiogenesis in malignancies of the female genital tract. *Gynecol Oncol* 1999;72:229–33.
- [3] Shi Q, Abuzzareo JL, Huang S, Fuller H, Xiang Q, Xia E. Constitutive and inducible interleukin 8 expression by hypoxia and acidosis renders human pancreatic cancer cells more metastatic. *Clin Cancer Res* 1998;3:3711–21.
- [4] Raymond MA, Winkler C, Jung A, Hohenberger W, Kuchler T, Kocherling F. The incidence of port-site metastases might be reduced. *Surg Endosc* 1997;11:902–6.
- [5] Lavin G, Cross PA, Balducci L, Heston R, Lopez A, Mangan JM. Laparoscopic port-site metastasis of an early stage adenocarcinoma of the cervix with negative lymph nodes. *Gynecol Oncol* 1999;79:155–7.
- [6] Lane G, Tsy J. Port-site metastasis following laparoscopic lymphadenectomy for adenocarcinoma carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1999;74:130–3.
- [7] Koblitzberger PD, Edwards L, Collins C, Milnes C, Hacker NF. Laparoscopic port-site recurrence following surgery for a stage-III squamous cell carcinoma of the cervix with negative lymph nodes. *Gynecol Oncol* 2000;79:324–6.
- [8] Iwanaka T, Arya G, Ziegler MM. Mechanism and prevention of port-site tumor recurrence after laparoscopy in a murine model. *J Pediatr Surg* 1998;33:437–41.
- [9] Lavretz F, Agostini A, Casarite S, Rubin F, Aggeback M, Jais JP, et al. Impact of pneumoperitoneum on tumor growth. *Surg Endosc* 2002;16:1170–4.
- [10] Agostini A, Rubin F, Aggeback M, Jais JP, Blanc H, Lavretz F. Influence of peritoneal factors on port-site metastases in a xenograft ovarian cancer model. *BJOG* 2001;108:309–12.
- [11] Nishimura SI, Watson DE, Ellis T, Rife AM, Jaramon GG. The effect of immune enhancement and suppression on the development of laparoscopic port site metastases. *Surg Endosc* 2000;14:439–43.
- [12] Yamaguchi K, Hishiyama Y, Shimizu A, Shimizu N, Auchi Y, Kitano S. Enhancement of port site metastasis by hyaluronic acid under CO₂ pneumoperitoneum in a murine model. *Surg Endosc* 2001;15:504–7.
- [13] van Dam PA, DeCloodt J, Tjalma WA, Heysart P, Boogaert D, Vergara IB. Trocar reimplantation metastases after laparoscopy in patients with advanced ovarian cancer: can the risk be reduced? *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:326–41.
- [14] Agostini A, Rubin F, Jais JP, Aggeback M, Viki F, Blanc H, et al. Peritoneal closure reduces port site metastases: results of an experimental in a rat ovarian cancer model. *Surg Endosc* 2002;16:289–91.

AGRADECIMIENTOS

Al Profesor Jordi Xercavins, Catedrático de Obstetricia y Ginecología de la Universidad Autónoma de Barcelona y Jefe del Servicio de Obstetricia y Ginecología del Área Materno-Infantil del Hospital Vall d'Hebron por su insistencia, constante motivación y dirección en la realización del presente estudio.

Al Dr. Antonio Gil Moreno, de la Unidad de Ginecología Oncológica del Hospital Vall d'Hebron, por su colaboración en el inicio y desarrollo de la técnica del ganglio centinela en los cánceres cervicales y vulvares, así como en su especial dedicación a la cirugía laparoscópica.

A todos los miembros de la Unidad de Ginecología Oncológica del Hospital Vall d'Hebron, Dra. Asun Pérez Benavente, Dra. Berta Díaz-Feijoo y Dr. Ignacio Aguilar Martínez, que conjuntamente con el Dr. Oriol Puig i Puig, han hecho posible la realización de este trabajo.

A la Dra. Isabel Roca, del Departamento de Medicina Nuclear del Hospital Vall d'Hebron, por su ayuda en la práctica de las linfogammagrafías, y detección intraoperatoria del ganglio centinela en el cáncer cervical y vulvar.

Al Dr. Angel García Jiménez y al Dr. Josep Castellví, del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Vall d'Hebron, los cuales han hecho posible el estudio histológico del ganglio centinela y los procesos de inmunohistoquímica relativos a la angiogénesis tumoral.

A la Dra. Cristina Centeno, al Dr. Jose Abal y a la Dra. Laura Mañalich, de la Unidad de Patología Cervical y Diagnóstico Precoz de Enfermedades Vulvares, del Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron, por su ayuda en el diagnóstico y seguimiento de las neoplasias cervicales.

A la Dra. Ramona Vergés, de la Unidad de Radioterapia y al Dr. José M. Campo Fornos, del Departamento de Oncología Médica del Hospital Vall d'Hebron, por su asesoramiento y orientación en las decisiones de los tratamientos adyuvantes en nuestra patología oncológica.

A la Dra Rosa Domínguez y a la Dra. S. Gispert, de la Unidad de Resonancia Magnética del Hospital Vall d'Hebron, por su continua colaboración, y valiosa ayuda en la obtención de las imágenes radiológicas.

A todos los demás miembros del Comité Oncológico Ginecológico del Hospital Vall d'Hebron, por su participación desinteresada y colaboración en la decisión de los procesos terapéuticos.

A todo el Equipo de Anestesia y Reanimación, del Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron, por su constante apoyo y ayuda en las prolongadas cirugías oncológicas.

A todo el Equipo de Instrumentistas de los quirófanos del Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron, por su diaria colaboración en los difíciles procesos quirúrgicos.

A todo el Equipo de Enfermería de la planta 9, y de las Consultas Externas del Hospital Materno-Infantil Vall d'Hebron, por su constante ayuda en la obtención de una parte de los resultados de este trabajo.

Finalmente, a Anna de Soler i Ruscalleda por su valiosa e incondicional ayuda en la confección de este manuscrito.

INDICE	Páginas
1. Introducción	
1.1 Esquema de la tesis	35
1.2.1 Conceptos generales	35
1.2.2 Histerectomía radical. Laparotomía	36
1.2.3 Histerectomía radical vaginal	38
1.2.4 Histerectomía radical. Laparoscopia	39
1.3 Valor de la parametrectomía	40
1.4 Linfadenectomía pélvica y aórtica	43
1.5 Linfadenectomía aórtica retroperitoneal	44
1.6 Afectación de los espacios linfovascuales	46
1.7 El concepto de la “nerve sparing surgery”	48
1.8 Quimio-radioterapia concomitante	49
2. El mapa linfático	
2.1 Introducción	55
2.2 Bosquejo histórico	57
2.3 Fallos de identificación del ganglio centinela	58
3. Linfogramagrafia	
3.1 Generalidades	61
3.2 Técnica	61
4. Detección intraoperatoria del ganglio centinela	
4.1 Técnica	63
4.2 Pacientes	66
4.3 Resultados	67
4.4 Discusión	74
4.5 Conclusiones	83
5. Casos clínicos	
5.1 Caso clínico nº 1	87
5.2 Caso clínico nº 2	91
6. Port site metástasis	
6.1 Introducción	97
6.2 Frecuencia y definición	98

6.3	Port site metástasis en el cáncer ovárico y tubárico	100
6.4	Port site metástasis en pacientes con cáncer endometrial	102
6.5	Port site metástasis en pacientes con cáncer vaginal	102
6.6	Port site metástasis en el cáncer cervical	103
6.7	“Sister Mary Joseph’s nodule”	106
7. Factores etiológicos del port site metástasis		
7.1	Generalidades	109
7.2	Diseminación hematológica	109
7.3	Implantación directa a pared	110
7.4	Pneumoperitoneo	111
7.5	“The chimney effect”	114
7.6	Inmunoreacción local	115
7.7	Técnica quirúrgica	117
7.8	Neoangiogénesis	118
8. Port site metástasis. Mecanismos de prevención		
8.1	Selección de pacientes	121
8.2	Lavados de los orificios de los trocares	121
8.3	Modificaciones quirúrgicas	122
8.4	Comentarios	123
9. Angiogénesis		
9.1	Definición	125
9.2	Promotores e inactivadores de la angiogénesis	125
9.3	Mecanismos de la angiogénesis tumoral	126
9.4	Metodología de la medición de la angiogénesis	127
9.5	Angiogénesis en el cáncer cervical invasivo	129
9.6	Angiogénesis en otros tumores ginecológicos	131
9.7	Inhibidores angiogénicos en el cáncer cervical y sus lesiones premalignas.	133
10. Terapia antiangiogénica		
10.1	Generalidades	135
10.2	Agentes que inhiben específicamente la formación de nuevos vasos sanguíneos	135

10.3 Agentes con objetivo específico sobre el endotelio vascular	136
10.4 Otros agentes antiangiogénicos	136
10.5 Estudios clínicos sobre terapias antiangiogénicas en el cáncer cervical	137
10.6 Conclusiones	137
11. Bibliografía	139

1. INTRODUCCION

1.1 Esquema de la tesis.

Presentamos un proyecto de tesis que está basado en las nuevas estrategias de tratamiento del cáncer cervical. Estudiaremos a través de él la utilidad del mapa linfático previo a la cirugía y la posterior detección intraoperatoria del ganglio centinela, ya sea por laparoscopia o laparotomía, en los estadios precoces del carcinoma cervical uterino, presentando los resultados obtenidos en las primeras cuarenta pacientes.

Describiremos además dos casos clínicos de presentación de metástasis en los orificios de la pared abdominal, en los que previamente se situaron los trocares laparoscópicos, e intentaremos aportar el estudio de nuevos factores etiológicos que puedan explicar la aparición de estas metástasis, y a su vez, ayudarnos en su prevención.

1.2. Tratamiento del cáncer de cervix.

1.2.1 Conceptos generales

El tratamiento del carcinoma cervical ha sido desde siempre eminentemente quirúrgico. Hoy en día precisamos distinguir los cánceres de cérvix en estadios iniciales (IA2, IB1 y IIA no “bulky”), en los cuales se ha demostrado que el tratamiento quirúrgico es el más apropiado, de los tumores cervicales en estadios avanzados (IB2, IIA “bulky” a IV), en los que la cirugía como única opción no tiene sentido, y en los que la quimio-radioterapia concomitante ha demostrado ofrecer mejores resultados en cuanto a supervivencia global y período libre de enfermedad. Otras opciones terapéuticas anteriormente propuestas como es el caso de la quimioterapia neoadyuvante se han demostrado menos eficaces y se hallan actualmente en desuso (1). Cabe considerar en este sentido que la suma de ambos procedimientos, cirugía y radioterapia, no ofrece mejoría en la supervivencia y

sin embargo aumenta de forma ostensible la morbilidad. Esta combinación de opciones terapéuticas sólo será usada en determinadas ocasiones como es el caso que tumores en estadios iniciales presenten invasión de espacios linfo-vasculares y/o afectación de los ganglios linfáticos, y/o extensión tumoral microscópica parametrial, factores los cuales paradójicamente no se hallan contemplados en la estadificación FIGO.

1.2.2 Histerectomía radical. Laparotomía.

Es el tratamiento apropiado, como antes hemos mencionado, para el carcinoma cervical en estadios precoces. Fue descrita originariamente por Wertheim (2) hace más de cien años, y suponía ampliar la histerectomía convencional mediante la exéresis de los parametrios, dividiéndolos entre el cervix y la pared pélvica. Su discípulo Latzko (3) hizo extensiva la resección hasta el parametrio distal, o sea hasta el hueso pélvico, y años más tarde, TeLinde describió la histerectomía radical modificada, en la cual reseca un fragmento del parametrio entre el cervix y el uréter además de un pequeño rodete de la cúpula vaginal. Con todo, para algunos autores de la primera mitad del siglo XX, no quedó claro que esta cirugía radical ofrezca mejores resultados que la histerectomía simple convencional sin resección vaginal ni parametrial, aunque más tarde sería demostrado todo lo contrario. Finalmente Piver et al. (4) publican una clasificación de las diferentes variantes de la histerectomía radical según el grado, valga la redundancia, de su radicalidad, dividiéndola en cinco clases, clasificación que por ser exhaustiva ha resultado ampliamente aceptada por la mayoría de escuelas. No obstante, actualmente y de forma práctica, diferenciamos sólo dos tipos de histerectomía radical: la proximal modificada o tipo II de Piver y la distal, la cual coincide con los tipos III-IV de Piver. La primera de ellas implicaría solamente la resección de la parte proximal del parametrio, inmediatamente a nivel ureteral, la exéresis de los ligamentos útero-sacos en su parte medial, completándolo con un margen vaginal de 2 cm. El tipo distal de este procedimiento radical consistiría en

la resección de todo el parametrio hasta el nivel de su inserción lateral en la pared pélvica, de todo el ligamento útero-sacro y de un amplio rodete vaginal. En 1999, Magriñá et al. (5) publican los resultados de la histerectomía radical modificada en el tratamiento del cáncer de cérvix en estadios iniciales. Se trata de una revisión retrospectiva de 56 pacientes en estadio I de la enfermedad (35 en estadio IA y 21 en IB) tratadas mediante histerectomía radical modificada, con un seguimiento mínimo de cinco años, de las cuales ninguna de las pacientes con tumores menores de 2 cm. presentaron invasión ganglionar, mientras que el 33% de tumores de más de 2 cm. tenían ganglios histológicamente positivos, y además dos pacientes de esta última serie manifestaron recurrencias. El análisis estadístico identificó al estadio FIGO, la afectación ganglionar y al tamaño tumoral como importantes factores pronósticos para la supervivencia global, mientras que el grado tumoral, la permeación linfo-vascular y la profundidad de invasión no fueron estadísticamente significativos. Otros autores también han estudiado la posibilidad de distintas modificaciones técnicas de la cirugía radical (6,7,8), o bien han hecho hincapié en la importancia de la extensión de la exéresis parametrial (9), o del valor terapéutico de la linfadenectomía pélvica (10). También se han establecido criterios de factores pronósticos basados en las posibles diferencias histológicas del carcinoma escamoso de cervix (11).

La importancia de la amplitud radical se basa en el concepto de margen libre de tumor y del riesgo de afectación paracervical. Un margen de resección de al menos 2 cm. se considera necesario en todas las direcciones de la exéresis (lateral, posterior, y vaginal), habido en cuenta que el margen anterior se halla siempre limitado por la proximidad vesical. Como hemos citado anteriormente el riesgo de invasión lateral es mínimo en el caso de tumores menores de 2 cm., que a su vez no presenten afectación de los espacios linfo-vasculares ni de los ganglios linfáticos, y en ellos la histerectomía radical proximal sería el tratamiento de elección, mientras que la histerectomía radical distal estaría indicada para tratamiento de tumores de entre 2 y 4 cm., los cuales también se incluyen en el

contexto de tratamiento quirúrgico primario. Todas estas consideraciones son aplicables a las diferentes vías de abordaje, ya sea la abdominal, la vaginal radical o la laparoscópica. Otra ventaja a considerar es que no excluyen la posibilidad de intervenciones asimétricas: proximales de un lado, y distales del otro, en tumores que se hallen lateralizados.

1.2.3 Histerectomía radical vaginal.

La histerectomía radical vaginal fue descrita inicialmente por Schauta en 1901, y posteriormente modificada por Stoeckel en 1918, y por Amreich en 1943. También existe una variante proximal y otra distal en la histerectomía vaginal ampliada; operación de Schauta-Stoeckel y operación de Schauta-Amreich respectivamente. Las dos presentan la ventaja de poder mejorar la resección vaginal necesaria dejando amplio margen de seguridad de las lesiones cervicales visibles, pero presentan otros inconvenientes como es la amplia incisión vulvo-vaginal de Schuchardt, precisa para este abordaje vaginal, y la aparente imposibilidad de practicar la linfadenectomía pélvica. Evidentemente esta intervención es ligeramente menos radical que la histerectomía ampliada abdominal ya que nunca se puede asegurar que la arteria uterina haya sido seccionada exactamente en su origen, y por la imposibilidad de poder situar un clamp en el parametrio más distal junto a la pared pélvica. La antes citada incisión de Schuchardt resulta, en la mayoría de veces, mucho más traumática que la incisión abdominal convencional, pues presenta secuelas en su cicatrización. Por todos estos motivos durante bastantes años este abordaje vaginal de la cirugía radical del cáncer de cuello uterino ha estado en desuso, hasta que un grupo de cirujanos franceses (12) desarrollaron vías mixtas (laparoscópicas y vaginales) que permitieron no solo la linfadenectomía pélvica sino también una exéresis amplia de los ligamentos cardinales a nivel de la pared ósea, y evitar las incisiones vaginales. Este nuevo procedimiento pasaría a denominarse histerectomía radical vaginal asistida por laparoscopia.

1.2.4. Histerectomía radical. Laparoscopia.

La verdadera diferencia entre estas intervenciones vaginales y la histerectomía radical totalmente laparoscópica es que los parametrios son totalmente resecados por vía vaginal en las primeras y por vía laparoscópica en las segundas.

La principal ventaja de la histerectomía radical laparoscópica es que el procedimiento se realiza en su totalidad bajo visión directa, con lo cual reducimos la posibilidad de lesiones de órganos, relativamente frecuentes en el abordaje vaginal, y sobre todo el sangrado durante la disección de los tejidos. Todos los principios y estrategias quirúrgicas de la vía abdominal se reproducen en mayor o menor medida en la vía laparoscópica, respetando siempre como es lógico los conceptos oncológicos de la cirugía radical. La sección de la cúpula vaginal debe ser protegida para evitar la pérdida del pneumoperitoneo pudiendo ser suturada tanto por vía vaginal como laparoscópica.

La cirugía endoscópica, asociada o no a la vía vaginal, ampliamente descrita en la literatura (13-16), permitirá siempre una mejor visualización del campo quirúrgico, mejor hemostasia, con menor sangrado intraoperatorio, y con una menor agresión, lo cual se traduce en un mayor logro estético, menor estancia hospitalaria y más pronta recuperación de las pacientes. Figura nº 1.

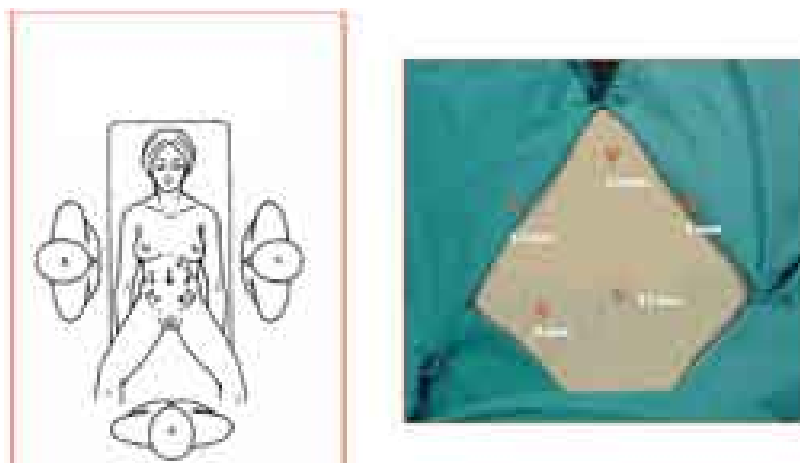


Figura n°1 Lugares de emplazamiento de los trocares laparoscópicos para la cirugía radical del cáncer de cérvix. Disposición del cirujano principal y ayudantes.

1.3. Valor de la parametrectomía

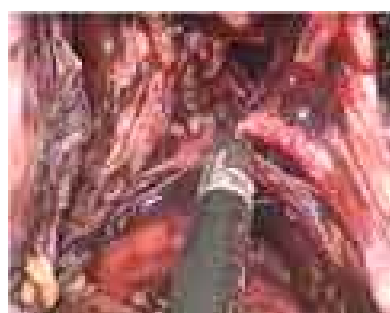
La presencia de adenopatías histológicamente positivas localizadas a nivel de los parametrios también ha sido un amplio tema de debate. Burghardt et al. (9) insisten en que la parametrectomía permite la resección del cáncer primario con un importante margen de seguridad de tejido sano. Estos autores estudian el tejido parametrial extirpado, y en las muestras describen cuatro tipos de afectación parametrial: 1) por continuidad, 2) de forma discontinua, 3) carcinomatosis de los linfáticos parametriales y 4) afectación histológica de los ganglios ubicados en el parametrio, lo cual estaría en contradicción con el estadiaje clínico del cáncer cervical, puesto que este tipo de invasión parametrial es microscópico y no se puede apreciar fácilmente mediante la exploración clínica. En estos estudios de Burghardt sobre parametrios completamente extirpados, la diseminación de células neoplásicas nunca excede de los 10 mm., y por tanto, la teoría de la diseminación contigua hacia el parametrio del tumor cervical podría ser errónea. La afectación parametrial solamente sería demostrable mediante el hallazgo de ganglios linfáticos histológicamente afectados en el seno de dicho parametrio. Esta afectación parametrial se correlaciona mejor con el tamaño del tumor primitivo, expresado sobre todo por el cociente tumor-cervix, o sea analizando el grado de invasión tumoral del estroma cervical adyacente, que con el estadio clínico FIGO. En el mencionado estudio los tumores más pequeños que no mostraban afectación parametrial contigua presentaban una incidencia de tan solo 3,4% de nódulos linfáticos positivos, pero en cambio en un 35% de pacientes con tumores mayores se hallaban ganglios histológicamente positivos en el parametrio. Estos autores analizan también los resultados histológicos y encuentran ganglios linfáticos en 280 (78%) de 359 especímenes quirúrgicos, de los cuales 63 (22,5%) presentaban ganglios linfáticos invadidos por células neoplásicas. Por último estudian la supervivencia a los 5 años que era del 84% si los parametrios estaban libres, pero que descendía al 53% con cualquier tipo de afectación histológica parametrial. Sin embargo, los datos de supervivencia no

diferían de forma especial tanto si la afectación ganglionar se demostraba en los nódulos parametriales o en los ganglios pélvicos (56% y 66% respectivamente). Concluyen los autores que ganglios histológicamente positivos pueden ser siempre hallados en las áreas parametriales, y que por tanto los parametrios deben ser siempre resecaados, haciendo excepción en algunos casos de tumores IB de muy pequeño tamaño.

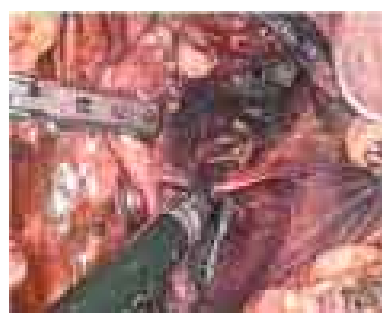
Posteriormente Winter et al (17) estudian la incidencia y las implicaciones pronósticas de la afectación parametrial según el volumen tumoral primario en una serie de pacientes afectas de carcinoma cervical con ganglios linfáticos negativos. Revisan una serie de 351 pacientes estadio IB-IIA o IIB sin afectación ganglionar linfática, tratadas mediante histerectomía radical tipo III. De todas ellas, 180 presentaban tumores < 5 ml., 120 eran tumores de entre 5-20 ml. y 51 > 20 ml. Clasifican la afectación parametrial del mismo modo que la anteriormente descrita publicación y encuentran que en el caso de infiltración del parametrio proximal al cervix se presentaba en 3.8, 8.3, y 27,5% respectivamente, mientras que la afectación parametrial distal solo alcanzaba el 2% de las muestras. No encuentran diferencias significativas en cuanto a la afectación parametrial entre los carcinomas escamosos o los adenocarcinomas, así como tampoco en la supervivencia a los 5 años de los diferentes grupos. Concluyen que es poco frecuente la afectación parametrial en estas pacientes que se hallan en estadios iniciales, y que la infiltración del parametrio, en esta serie de pacientes tratadas mediante histerectomía radical tipo III, no influenciaba el período libre de enfermedad ni la supervivencia global.

En los casos en que aparece un carcinoma cervical en muñón restante después de una histerectomía subtotal, o cuando en el examen del espécimen tisular obtenido tras una histerectomía total aparece un cáncer cervical oculto, debemos plantearnos efectuar una parametrectomía como terapéutica más apropiada que la aplicación de radioterapia. Magriñá et al. (18) la describen, practicada por laparoscopia junto con linfadenectomía pélvica y paraórtica, al mismo tiempo que una colpectomía total, en un

caso de adenocarcinoma vaginal que se presentó después de una histerectomía simple. Posteriormente Kohler et al. (19) publican lo que ellos denominan “Schauta sine útero”, refiriéndose a la parametrectomía radical con o sin extirpación del muñón restante en seis pacientes afectas de cáncer cervical oculto después de una histerectomía simple, de una recurrencia vaginal de cáncer endometrial o después de recidiva en cervix de cáncer endometrial después de una histerectomía supracervical. La parte vascular del ligamento cardinal y de los pilares vesicales son resecaos por laparoscopia, concluyendo que es una alternativa válida para la cirugía abierta en pacientes seleccionadas. Lee et al. (20) también describen el procedimiento laparoscópico de la parametrectomía como una alternativa a lo que antes requería una cirugía mayor laparotómica o de la aplicación de radioterapia pélvica. Recientemente Diaz-Feijoo et al.(21) han publicado un caso de parametrectomía radical laparoscópica correspondiente a una paciente afecta de carcinoma cervical a la que previamente se le había practicado una histerectomía subtotal. Figura nº 2.



Sección parametrio dcho



Sección parametrio izdo

Figura nº2 Sección de ambos parametrios durante la cirugía radical practicada mediante abordaje laparoscópico.

1.4. Linfadenectomía pélvica y aórtica.

La linfadenectomía pélvica en el carcinoma cervical se considera tiene un papel diagnóstico y pronóstico excepto en el caso de positividad histológica de los ganglios en el cual podría tener un significado terapéutico (22). Esta linfadenectomía puede ser de forma selectiva (“sampling”) en la que se extrae solamente una muestra ganglionar representativa para la estadificación tumoral, o radical, la cual consiste en una extirpación reglada de todos los grupos ganglionares que pueden afectarse en el caso de diseminación de la neoplasia, por lo que tiene intención diagnóstica y de estadificación, además de curativa (23). Sin embargo no existe consenso sobre cual debe ser el tipo de linfadenectomía a aplicar, sobre la extensión de la misma, ni sobre el número mínimo de ganglios a extirpar.

En este contexto la reciente introducción del estudio del ganglio centinela, y los consiguientes descubrimientos de técnicas de inmunohistoquímica, puede permitir en un futuro que la aplicación de este procedimiento limite la extensión de la linfadenectomía, con una importante disminución de la morbilidad.

La técnica quirúrgica de la linfadenectomía pélvica laparoscópica se asemeja a la realizada habitualmente por vía laparotómica. Para la correcta visualización de la pelvis se necesita la colocación de la paciente en posición de Trendelenburg, con 20-30 grados de inclinación. Debe movilizarse el útero hacia el lado opuesto, quedando así delimitado un espacio triangular por el ligamento redondo, los vasos ilíacos externos y el ligamento infundibulopélvico, y su acceso se consigue mediante una incisión en la parte medial de este triángulo. Es conveniente no seccionar el ligamento redondo hasta haber completado la linfadenectomía. Para ella se localizan y disecan los espacios avasculares correspondientes a las fosas paravesical y pararectal. Se procede así a la exéresis de los ganglios linfáticos adyacentes a los vasos ilíacos, conservando el nervio genitocrural, y posteriormente a los nódulos de la fosa obturatriz ocupada por el nervio obturador y por los vasos del mismo nombre, siendo necesario la identificación de dicho nervio para no

lesionarlo y para poder completar la extirpación de todos los grupos ganglionares a este nivel.

Los límites anatómicos de la linfadenectomía pélvica vienen representados por la bifurcación de las arteria ilíacas en sentido craneal, caudalmente por el ligamento inguinal, lateralmente por los vasos ilíacos externos y en profundidad por el nervio obturador y la pared pélvica (24-25).

En casos de importante volumen tumoral o en los que existe la sospecha de afectación linfática pélvica será precisa la extensión de la linfadenectomía a los espacios paraaórticos y a los situados alrededor de los vasos ilíacos comunes (13). Figura n 3.



Figura n°3 Situación de un ganglio ilíaco derecho antes de ser identificado mediante la sonda polar. Véase relación con los vasos ilíacos y uréter.

1.5. Linfadenectomía aórtica retroperitoneal.

La linfadenectomía de los ganglios situados alrededor de los vasos aórticos o de los ilíacos comunes mediante abordaje laparoscópico extraperitoneal fue inicialmente descrita por Dargent (26) y por Querleu (27) y sus colaboradores en el año 2000. En las

pacientes afectas de carcinoma cervical avanzado o con tumores “bulky” no se considera apropiado el tratamiento quirúrgico de entrada y en cambio esta indicada la quimioterapia concomitante con la radioterapia. El conocimiento del estado ganglionar para-aórtico nos permitirá el adecuar los campos de radiación extendiéndolos por encima de la pelvis en el caso de que estos se presenten como histológicamente positivos o, en el caso contrario, permitiendo limitar la radiación a solo los ganglios pélvicos. La afectación ganglionar en general, pero principalmente la presencia de enfermedad metastásica de los ganglios aórticos es el más importante factor pronóstico en las pacientes afectas de cáncer cervical avanzado, siendo además una herramienta útil para diferenciar entre pacientes de alto y bajo riesgo.

Distintos métodos se han utilizado para asesorar la enfermedad metastásica en los ganglios pélvicos y para-aórticos en el cáncer cervical, los cuales incluyen la tomografía, la resonancia magnética, la linfografía y la tomografía de emisión de positrones (PET-scanner) las cuales presentan índices relativamente bajos de sensibilidad y de especificidad, pero es sobre todo el conocimiento de su afectación histológica lo que nos dará idea clara de cómo optimizar su tratamiento, y además, hay que tener presente que la resección de estos ganglios metastáticos producirán sin duda un importante beneficio terapéutico.

La linfadenectomía aórtica, primeramente realizada por vía laparotómica pero que hoy en día se prefiere efectuarla por vía laparoscópica mediante abordaje retroperitoneal se considera el método más apropiado, porque ofrece ventajas sobre el abordaje convencional transperitoneal, tales como la disminución de riesgo de lesiones intestinales, la disminución de formación de adherencias intraperitoneales, y el hecho que la existencia de cirugía abdominal previa no parece pueda tener impacto en los resultados.

La técnica ha sido ampliamente descrita por Querleu et al. (27), y ratificada por Sonoda (28). Al paciente se le coloca en posición supina, con el cirujano y su ayudante a

la izquierda de la paciente. Se ha escogido el lado izquierdo porque la mayoría de ganglios se encuentran situados en la región para-aórtica izquierda, y porque permite además continuar fácilmente la disección ganglionar hasta el lado derecho. En todos los casos se precisa primero efectuar una laparoscopia transperitoneal, de modo convencional, para descartar la presencia de enfermedad peritoneal, para controlar la distensión peritoneal al practicar el neumoperitoneo posterior y, en el caso de pacientes jóvenes, poder efectuar la trasposición ovárica a los espacios paracólicos, y de esta manera protegerles de los efectos de la radioterapia, permitiendo conservar su función hormonal. Seguidamente, un trócar convencional de 11 mm. es situado tras una pequeña incisión cutánea a 2cm. por encima de la espina ilíaca izquierda, introduciéndolo de forma cuidadosa para no perforar la membrana peritoneal, e iniciando así la formación del neumoperitoneo retoperitoneal mediante la inyección de CO₂. En los dos últimos años ya no se procede en nuestra Institución a la creación de un espacio retroperitoneal mediante el dedo índice, puesto que la forma de abordaje anteriormente descrita ofrece numerosas ventajas sobre la disección digital (Gil-Moreno y cols.; pendiente de publicación). A continuación se liberan las adherencias con el mismo laparoscopio y se inicia la exéresis ganglionar creando un espacio retroperitoneal por encima del músculo psoas. Los límites de la disección ganglionar se sitúan inmediatamente por debajo de la vena renal y alcanzan los territorios adyacentes a los vasos ilíacos comunes. Una vez completada la disección ganglionar linfática se procede a la extracción del espécimen ganglionar dentro de adecuadas bolsitas de material plástico, que impidan su contacto con los orificios de emplazamiento de los trócares, evitando así el desarrollo posterior de “port-site metástasis”.

1.6. Afectación de los espacios linfovasculares.

Muchos estudios han señalado el significado clínico de la invasión de los espacios linfovasculares y de las micrometástasis en los ganglios linfáticos en los estadios iniciales

del cáncer de cervix, considerándolos como factores de riesgo para su recurrencia. En este sentido Marchiole et al. (29) han realizado un estudio retrospectivo para reafirmar la importancia de la afectación de los espacios linfovascuales como factor predictivo de recurrencia después del tratamiento quirúrgico en una serie de 292 pacientes diagnosticadas de cáncer cervical inicial y tratadas todas ellas mediante histerectomía radical vaginal asistida por laparoscopia. Los nódulos linfáticos fueron sometidos a estudio inmunohistoquímico con citoqueratinas AE1 y AE3. Los autores concluyen que las micrometástasis en los ganglios linfáticos son un importante factor de riesgo de recurrencia tumoral en cánceres iniciales de cervix con no aparente afectación ganglionar, y que, sería lo más importante, estas micrometástasis ganglionares solamente ocurren en los tumores que presentan afectación de los espacios linfovascuales. De forma parecida Creasman y Kohler (30) realizan una revisión de la literatura (25 artículos) para determinar si la invasión de los espacios linfovascuales en pacientes afectas de estadios precoces de cáncer cervical pudiera presentar factores pronósticos. Únicamente en tres publicaciones se considera este parámetro como factor de riesgo independiente mientras que el resto de los trabajos lo asocia con la invasión de los ganglios linfáticos y el tamaño y profundidad de invasión tumoral. Ayhan et al. (31) publican un estudio para evaluar las variables que pueden modificar la supervivencia global o el periodo libre de enfermedad y el papel de la radioterapia adyuvante en los carcinomas cervicales FIGO estadio IB sin metástasis ganglionar, en una revisión retrospectiva de 393 pacientes, concluyendo que el tamaño tumoral, la invasión de los espacios linfovascuales y la afectación vaginal son factores pronósticos independientes, y sin embargo, la radioterapia adyuvante en estas pacientes con ganglios negativos no ofrecía ventajas sobre la supervivencia o mejoría del control tumoral local. Una publicación reciente de Chernofsky et al.(32) intenta determinar si la cantidad de invasión de espacios linfovascuales se correlaciona con el tiempo de aparición de recurrencias en 101 mujeres con estadios IA2-IIA de carcinoma escamoso de cervix

sometidas a histerectomía radical, concluyendo que la cantidad de invasión de espacios linfovasculares definida como el porcentaje de secciones histológicas y el número total de focos de dicha invasión es un factor pronóstico independiente para el tiempo de aparición de recurrencias locales.

1.7. El concepto de la “nerve sparing surgery”

La histerectomía radical tipo III de Piver la cual resulta el tratamiento de elección para los carcinomas cervicales estadios FIGO IB-IIA mayores de 2 cm. puede presentar morbilidad intra o post-operatoria, siempre relacionada con la radicalidad de la cirugía (33), consistente en fistulas del tracto inferior urinario, íleo paralítico, linfoquistes, tromboembolismos, etc., pero de un modo especial disfunciones vesicales también llamadas vejiga neurógena (34) . Esta se define como la aparición de ciertas dificultades en la micción después de la cirugía radical que lleva consigo la pérdida de calidad de vida de las pacientes a causa de un estrés físico y mental.

Los objetivos de la técnica de la nerve sparing surgery son preservar de forma sistémica los nervios hipogástricos, espláncnicos, pélvicos y los del plexo pélvico en este tipo III de histerectomías radicales, para mejorar su posterior función vesical (35). Siempre existe un balance entre radicalidad curativa, o sea exéresis amplia del tumor, y la disfunción vesical.

Los nervios que pueden quedar afectados en las histerectomías radicales son: a) el nervio hipogástrico que se lesionan durante la resección del ligamento utero-sacro de la pared posterior pélvica, b) el espláncnico pélvico que se lesionan durante la disección de los ganglios mediales a la vena iliaca interna y los de alrededor de la vena uterina, c) las ramas vesicales del plexo pélvico que pueden ser seccionadas durante la resección del ligamento vésico-uterino, y finalmente d) el plexo pélvico que puede ser dañado en el momento de la sección del ligamento útero-sacro y recto-vaginal de la cúpula vaginal (36).

Diversos autores han propuesto técnicas para la protección de estos tejidos nerviosos durante la histerectomía radical (37-38), después de una completa descripción de la composición neural de los ligamentos laterales uterinos y de la fascia recto-sacra, descrita por Sato (39) en 1991. Interesante, por lo completo de su descripción, es la reciente publicación de Sakuragi et al. (40) sobre un estudio de 27 pacientes sujetas a cirugía radical de las cuales en 22 de ellas (81,5%) se pudo completar la cirugía “nerve sparing”, mientras que no fue posible en cinco de ellas. Concluyen que en ninguna de las 22 primeras se presentó incontinencia urinaria, y en cambio en 3 de las cinco restantes apareció incontinencia y una importante disminución de la sensación urinaria.

La técnica de esta modificación quirúrgica consiste en separar el nervio hipogástrico del ligamento útero-sacro antes de la sección de este de la pared pélvica posterior (41), siendo preciso ser meticuloso en la disección de ganglios y linfáticos sacros (40,42), así como también al amputar la cúpula vaginal (43), puesto que el plexo pélvico se halla muy cercano al paracolpos, y finalmente debiendo evitar lesionar los esplácnicos pélvicos al disecar el ligamento cardinal.

1.8. Quimio-radioterapia concomitante

El cáncer de cuello uterino en su estadio precoz tiene un buen pronóstico y puede ser controlado mediante cirugía o radioterapia; los estudios retrospectivos y prospectivos han confirmado recientemente estos resultados (44) La radioterapia primaria de tipo externo y la braquiterapia han sido hasta hace pocos años el tratamiento de referencia en los cánceres localmente avanzados (estadios IB2-IVA). De acuerdo con los datos ofrecidos por el último informe anual de la FIGO (45) y por algunos centros de tratamiento radioterápico (46-47) la supervivencia a 5 años varía entre el 63% y el 70% para los estadios IIB, y desde el 16% al 25% en el estadio IVA.

La supervivencia libre de enfermedad así como la supervivencia global están estrechamente relacionadas con la enfermedad retroperitoneal, especialmente cuando esta afectación se halla presente de forma microscópica en los ganglios linfáticos para-aórticos. Es por ello que ya comentábamos anteriormente la necesidad de la práctica de la linfadenectomía retroperitoneal aórtica para evaluar de forma fehaciente (histológica) las metástasis ganglionares y así poder extender el campo de radiación hasta el límite de los vasos renales.

Desde el advenimiento de la irradiación con megavoltaje de los años cincuenta no se han producido importantes mejoras en el tratamiento radioterápico del cáncer cervical, pero últimamente se han considerado nuevas estrategias incluyendo combinación de terapias, especialmente la utilización concurrente de la quimioterapia con la radioterapia. La administración de quimioterapia de forma concurrente con la radioterapia ofrece teóricamente ventajas sobre el uso exclusivo de la radioterapia. Los dos tratamientos interactúan, incrementando la apoptosis de las células tumorales, ya que la quimioterapia actuaría potenciando los efectos de la radioterapia e inhibiendo la reparación del daño inducido por la radiación o produciendo una fase del ciclo celular más sensitiva a la radiación. La quimioterapia también puede de forma independiente incrementar el porcentaje de muerte de las células tumorales, aunque las dosis de administración de las drogas quimioterápicas suelen ser en estos casos inferiores a las usuales utilizadas para tratar los tumores sólidos y probablemente estos tratamientos no puedan tener efecto sobre las metástasis a distancia.

La aparición de tres amplios estudios randomizados de Keys et al. (48), Rose et al. (49) y Morris et al. (50), aparecidos en la misma revista y al mismo tiempo, junto con artículos de otras publicaciones (51-53) pueden ilustrarnos algunas de estas cuestiones. El estudio de Keys et al. (48) para el Gynecologic Oncology Group, compara radioterapia única con un régimen de seis ciclos semanales de cisplatino y radiación pélvica de forma

concurrente en 369 pacientes estadio IB “bulky”. El resultado de este régimen combinado es que fue bien tolerado, no aumentó la duración media del tiempo de tratamiento que fue de 50 días para ambos grupos, pero sin embargo el uso concomitante de cisplatino y radiación significó una importante mejoría en el control de la enfermedad pélvica y una prolongación de la supervivencia.

La segunda razón de este contexto es el estudio publicado por Rose et al. (49) sobre 526 mujeres con estadios más avanzados de cáncer cervical (IIB, III o IVA) las cuales fueron randomizadas para recibir radioterapia de forma concomitante con uno de los tres regímenes quimioterápicos: cisplatino semanal; dos ciclos de combinación de tres drogas consistente en hidroxiaurea, cisplatino y fluorouracilo; o dos ciclos semanales de hidroxiaurea. Casi en la mitad de las pacientes de esta serie, la enfermedad afectaba a la pared pélvica (estadio IIB) o a la vejiga (estadio IVA). La supervivencia libre de enfermedad a los 24 meses fue significativamente más alta en las pacientes que recibieron cisplatino (64-67%) en comparación con las tratadas con hidroxiaurea (47%). A causa de la menor toxicidad del cisplatino que la del régimen con tres drogas se dio lógicamente preferencia al primero. Así mismo los resultados de este estudio muestran un claro mensaje de que es el momento de abandonar el uso de la hidroxiaurea para el tratamiento del cáncer cervical.

La tercera razón para la utilización concomitante de la quimioterapia con la radioterapia es el estudio de Morris et al. (50), el cual incluye 388 mujeres con enfermedad avanzada, comprendida entre el estadio IB “bulky” y el estadio IVA. Las mujeres fueron asignadas para recibir tres ciclos de cisplatino y fluorouracilo en combinación con la radiación pélvica o bien únicamente irradiación pélvica y paraórtica. Los resultados fueron concluyentes ya que la adición de quimioterapia mejoraba el control de la enfermedad pélvica e incrementaba la supervivencia global (73% comparado con el 58% con el uso de solo radiación).

El objetivo del estudio de Thomas et al. (51) fue determinar si la adición de 5-fluorouracilo y/o un cambio en el fraccionamiento de la radioterapia disminuía la tasa de complicaciones en un grupo de 234 pacientes seleccionadas de 292 con estadios IB-IVA, mayores de 5 cm. randomizadas para cuatro posibles tratamientos, los cuales combinaban distintas modalidades de radioterapia y 5-fluorouracilo, concluyendo que el tratamiento endovenoso de este último concurrente con la radioterapia no producía efectos beneficiosos.

El estudio de Whitney et al. (52) responde a un protocolo activado por el Gynecologic Oncology Group que compara la radioterapia concomitante con hidroxiurea, con la irradiación más fluorouracilo y cisplatino para el tratamiento de carcinoma cervical localmente avanzado. Se seleccionaron 368 pacientes de un total de 388 con estadios clínicos situados entre el IIB y el IVA con citologías de lavado peritoneal negativas y no afectación de los ganglios linfáticos para-aórticos, las cuales fueron randomizadas a recibir cisplatino y fluorouracilo (167 pacientes) o hidroxiurea (191 pacientes), y en las que se valoraba además los efectos hematológicos o gastrointestinales de ambos regímenes. El estudio demuestra que para pacientes con cáncer cervical localmente avanzado la combinación de 5-fluorouracilo y cisplatino con radioterapia ofrece a las pacientes una mejor supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global que las tratadas con hidroxiurea, con aceptable toxicidad.

Finalmente debemos también mencionar la publicación de Peters et al. (53) que es quizás el más interesante desde el punto de vista práctico, orientado a determinar cuando la adición de quimioterapia basada en cisplatino a la radioterapia puede mejorar la supervivencia en mujeres afectas de carcinoma cervical en estadios precoces pero etiquetadas como pacientes de alto riesgo. Seleccionaron un total de 268 enfermas con estadios IA2, IB y IIA de carcinoma de cervix, tratadas inicialmente con histerectomía radical y linfadenectomía pélvica, pero que presentaban histología positiva en los

ganglios linfáticos y/o márgenes positivos tumorales y/o afectación microscópica del parametrio. Dichas pacientes fueron randomizadas a recibir únicamente radioterapia o la combinación de radioterapia y quimioterapia, consistente en un bolus de cisplatino 70 mg/m² y una infusión 96-horas de fluorouracilo 1000 mg/m² al día cada tres semanas durante cuatro ciclos. La conclusión fue que el tratamiento concomitante de radioterapia con quimioterapia basada en el cisplatino mejoró de forma estadísticamente significativa tanto la supervivencia global como la supervivencia libre de enfermedad en estas pacientes con estadios precoces pero de alto riesgo.

Podemos concluir diciendo que el tratamiento de elección para el carcinoma cervical uterino en estadios precoces de la enfermedad es el tratamiento quirúrgico basado en histerectomía radical por vía laparotómica, o mejor laparoscópica, completándola con linfadenectomía pélvica y, en algunos casos seleccionados, paraaórtica. Para el resto de estadios más avanzados se sugiere el tratamiento radioterápico concomitante con quimioterapia semanal basada en cisplatino, pero precedida por la práctica de una meticulosa linfadenectomía paraaórtica retroperitoneal, mediante abordaje laparoscópico para determinar la extensión infrarrenal del campo de aplicación radioterápico. La aplicación de las técnicas laparoscópicas en esta cirugía radical nos permitirá, por su mejor minuciosidad, tener en cuenta el concepto de la “nerve sparing surgery” para minimizar la posibilidad de lesiones de los filetes nerviosos pélvicos responsables de posteriores disfunciones vesicales. Figura nº 4.

Pre-QM-RT



Post-QM-RT



Figura n°4 Resonancia Magnética: tumoración vertical “bulky” antes y después del tratamiento mediante quimio-radioterapia concomitante. Obsérvese la completa resolución del tumor.

2. MAPA LINFÁTICO

2.1. Introducción.

Hace años que el conocimiento del estado ganglionar en los cánceres ginecológicos es una preocupación constante de los ginecólogos oncólogos, puesto que en la mayoría de las pacientes neoplásicas puede representar uno de los más importantes factores pronósticos. Intentos para averiguar la afectación de los ganglios linfáticos en el cáncer de cervix uterino antes de la aparición de las nuevas técnicas de imagen se propusieron inicialmente inyectando colorante a través de los linfáticos superficiales del dorso del pie, con pobres resultados. Por otra parte, las técnicas de imagen tales como la ecografía, la resonancia magnética o el TAC, pueden evaluar bien la presencia y tamaño ganglionar linfático pero no su afectación metastásica. No obstante el tratamiento de elección de los estadios precoces del cáncer de cervix es eminentemente quirúrgico, su estadificación FIGO se basa exclusivamente en la exploración clínica y no contempla lógicamente el estado ganglionar.

El más importante factor pronóstico en los estadios iniciales del cáncer cervical es la invasión tumoral de los ganglios linfáticos por las células neoplásicas, y de su afectación dependerá la decisión de terapias adyuvantes después de la cirugía. En estas pacientes afectas por estadios precoces de neoplasia cervical (estadio IA2, IB1 y IIA no “bulky”) las metástasis en los ganglios pélvicos se presentan aproximadamente en un 10 % de los casos, y por tanto en el resto de pacientes (90%) la linfadenectomía pélvica tendría dudosos efectos terapéuticos o bien sólo representará valor pronóstico con escaso beneficio clínico.

El mapa linfático obtenido a través de la linfogammagrafía de forma preoperatoria, seguido de la detección del ganglio centinela intraoperatoriamente, mediante tecnecio 99 y azul de isosulfan se ha propuesto como técnica sencilla y útil para la identificación del

o de los ganglios que pueden presentar metástasis en este grupo de pacientes afectas de estadio precoz de cáncer de cervix.

Se define como ganglio centinela el primer ganglio linfático que recibe el drenaje de una determinada región anatómica, en la cual se halla el tumor primario y su negatividad histológica podría en principio predecir la ausencia de metástasis tumoral en otros ganglios no centinela de la misma cadena linfática. Figura nº 5. Esta técnica de detección del estado del ganglio centinela ha sido ampliamente aceptada para el melanoma cutáneo y el carcinoma mamario a causa de que la no disección del sistema linfático axilar o cutáneo resuelve el problema del edema post-operatorio de la extremidad superior, o de la morbilidad sujeta a la linfadenectomía en otros territorios. La técnica del ganglio centinela resulta un procedimiento quirúrgico prometedor para estadios precoces del carcinoma cervical.

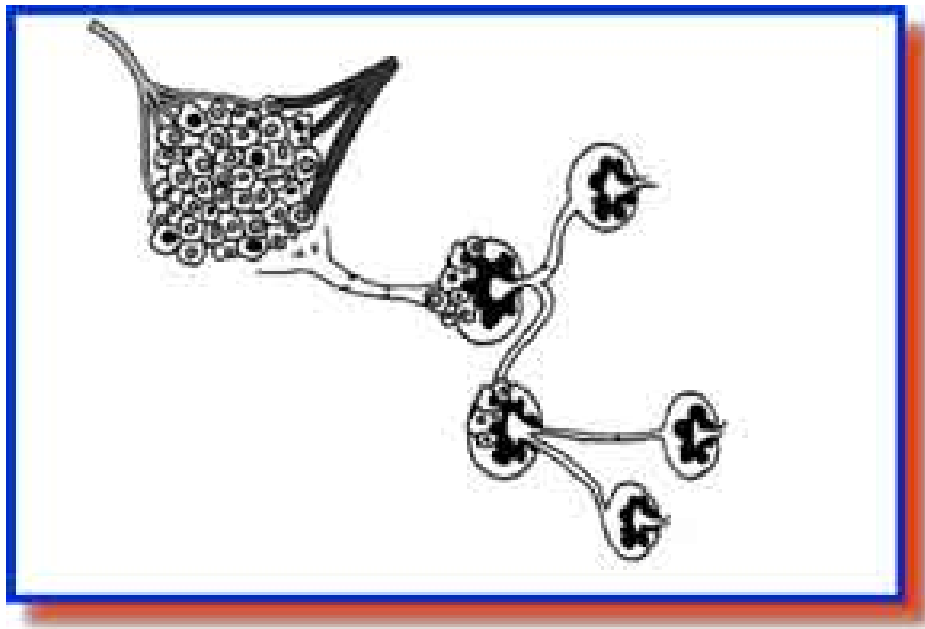


Figura nº5 Esquema de la afectación del ganglio centinela por las células tumorales.

2.2. Bosquejo histórico.

Ya en el siglo pasado el patólogo alemán Rudolf Virchow (1821-1902) describía muy claramente el concepto de ganglio centinela, señalando que el fluido tisular (linfa) puede contener bacterias o células tumorales las cuales drenan a ganglios específicos, antes de pasar a otros territorios linfáticos y eventualmente al resto del organismo. .Cincuenta años más tarde este proceso de drenaje linfático hacia ganglios específicos fue examinado con detalle por Braithwaite (54) mediante azul vital inyectado a distintos lugares del organismo el cual drenaba hacia los campos ganglionares; investigaciones que se realizaron primero en gatos y después en humanos. El fue el primero en usar la palabra centinela en referencia al primer nódulo en cual recibiría de forma directa el drenaje linfático de un lugar en concreto. Fue descrito como “centinela glandular” y publicado en 1923. Posteriormente este concepto fue revisado por Gould et al.(55), el cual en 1960 describe el drenaje linfático directo al ganglio centinela en casos de carcinoma de parótida. Realizó biopsia peroperatoria por congelación del nódulo centinela al tiempo de la parotidectomía, y si encontraba enfermedad metastásica proseguía la cirugía mediante radical disección linfática del cuello. Pocos años más tarde, en 1966, Sayegh et al. (56) publican los resultados de sus estudios del drenaje linfático en tumores testiculares. Pero es realmente en 1977, cuando Cabanas publica sus resultados clínicos en pacientes con tumores primarios no solo testiculares sino también del pene, ano, recto y piel (57), haciendo énfasis en que existía un ganglio centinela en relativa posición constante drenando los tumores del pene.

A pesar de estos numerosos estudios sobre procesos fisiopatológicos, que convertían al ganglio centinela como un marcador de la diseminación tumoral a un determinado campo regional ganglionar, su aplicación clínica hacia la determinación de un mapa linfático y una selectiva linfadenectomía del centinela, no fue completamente valorada hasta la descripción de Wong y Morton et al. (58-59) en los inicios de la década

de los 80, usando inicialmente un modelo felino y demostrando posteriormente que la situación en humanos era muy similar, aplicándolo posteriormente al melanoma cutáneo, y siendo una de las publicaciones más referidas por su elegante simplicidad y lógica en la descripción del concepto de ganglio centinela.

En el campo del carcinoma cervical uterino fueron Echt et al. (60) quienes publicaron en 1999 los primeros casos de detección del ganglio centinela en estadios precoces de estos tumores.

Posteriormente se iniciaron las publicaciones de los trabajos dirigidos a la validación de la técnica. Dos importantes estudios se completaron para confirmar la hipótesis propuesta de que el estado del ganglio centinela en el melanoma cutáneo reflejaba el estado de todo el territorio regional ganglionar. Un estudio fue realizado por Reintgen et al. (61) sobre 42 pacientes y otro por Thompson et al. (62) el cual abarcaba 118 pacientes, ambos con remarcable similitud e indicando muy claramente que el ganglio centinela era un indicador preciso del melanoma metastático en los ganglios.

Otro importante avance en los diez últimos años es el desarrollo de sondas polares para ser usadas de forma intraoperatoria con mayor sensibilidad, las cuales permiten más rápida identificación del ganglio centinela con menos disección, o incluso usando la vía laparoscópica.

2.3 Fallos de identificación del ganglio centinela

A pesar de existir series con un índice de detección del ganglio centinela del 100%, otras presentan cifras de falsos negativos que exceden el 10% (63-64), representando la posibilidad de encontrar enfermedad metastásica en ganglios no detectados como centinela, y por tanto no previamente extirpados. Estos fallos ocurren por varias razones, relativas a la incorrecta o incompleta disección del ganglio, no haber sido adecuada la inyección peritumoral del radio-isótopo o del colorante azul, o por una incorrecta interpretación de

la linfogammagrafía. Otras veces es el patólogo que puede fallar en el diagnóstico de las micrometástasis presentes en determinados ganglios centinela.

Adecuados análisis de las posibles causas para la presentación de falsos negativos en los procedimientos del ganglio centinela en los melanomas cutáneos (65) sugieren que aproximadamente un tercio de ellos son atribuibles a Medicina Nuclear, otro tercio a fallos en los procesos quirúrgicos y el tercio restante al diagnóstico histo-patológico. Sin embargo no creemos se deba tener en cuenta la posible aparición de recurrencia en los campos ganglionares en los cuales el estudio del ganglio centinela mostró histología negativa. Existen poderosas razones para creer que algunas de estas recidivas no ocurren a causa de fallos en la identificación y exéresis de los correctos ganglios centinela, sino posiblemente a causa de diseminaciones hematógenas del tumor primario, como puede evidenciarse de la presencia de metástasis en otras áreas del sistema (63).

3. LINFOGAMMAGRAFIA.

3.1 Generalidades.

Un requisito esencial para el éxito del procedimiento del ganglio centinela y de la biopsia del mismo es el hecho de practicar un meticuloso mapa del drenaje linfático desde el tumor primitivo. El papel de la linfogammagrafía es proveer dicho mapa a cada paciente. Este mapa nos indica no solamente la localización del tumor primario, sino la localización de los ganglios centinelas así como también el número de ellos en cada localización (66-67). El mapa linfático se obtiene usando tecnecio 99 de pequeña partícula radiocoloide, colimadores de alta resolución con mínima penetración de los septos y protocolos de imagen capaces de detectar todos los ganglios centinela de cada paciente sea cual fuere su localización. El ganglio centinela no siempre se encuentra en la zona ganglionar más cercana al tumor sino que su mejor definición es la que lo señala como “cualquier ganglio linfático capaz de recibir directamente el drenaje linfático desde el tumor primario” (68). Poniendo como ejemplo la linfogammagrafía practicada en pacientes afectas de cáncer de mama (69), la inyección de pequeñas partículas radiocoloides de forma peritumoral permite observar en un 50 % de casos se detectan ganglios centinelas en el área axilar, pero otras veces pueden estos ganglios encontrarse en la cadena mamaria interna, en la región supraclavicular o en la interpectoral. También pueden observarse nódulos intramamarios ya que el drenaje linfático puede en algunos casos cruzar la línea central de la mama, y por ello podemos encontrar enfermedad micrometastásica en algunos ganglios centinela a pesar de su localización y de haber efectuado una minuciosa aplicación de la técnica.

3.2. Técnica:

El día anterior a la intervención se procede a la inyección del radiofármaco, en este caso el 99 m-Tc-sulfur coloidal (nanocoloide: Nanocoll ®). La dosis es variable

y depende del tiempo estimado que se prevé hasta la intervención quirúrgica y de la técnica de administración. En el caso del cáncer de cervix se utilizan 4 mCi (148 MBq) para aproximadamente unas 18 horas entre inyección y detección. Se visualiza el cervix mediante especulum, y se practica colposcopia para una buena localización de la lesión, que nos permita cuatro inyecciones peritumorales del radioisótopo (figura). Estas inyecciones se localizan a las 3,6,9 y 12 posiciones horarias, usando una aguja hipodérmica 27.

La linfogramagrafía se practica seguidamente dentro de los primeros minutos y hasta dos o tres horas después, utilizando una gamma-cámara con colimador de baja energía, alta resolución y con orificios paralelos, mediante rango energético de 140 KeV, y una ventana del 15%. La detección del ganglio centinela mediante la linfogramagrafía es estática, con proyecciones de la zona tumoral y de los sectores de drenaje linfático, en sus proyecciones anterior, posterior, lateral y/o oblicuas. Figura nº 6.

4. DETECCION INTRAOPERATORIA DEL GANGLIO CENTINELA.

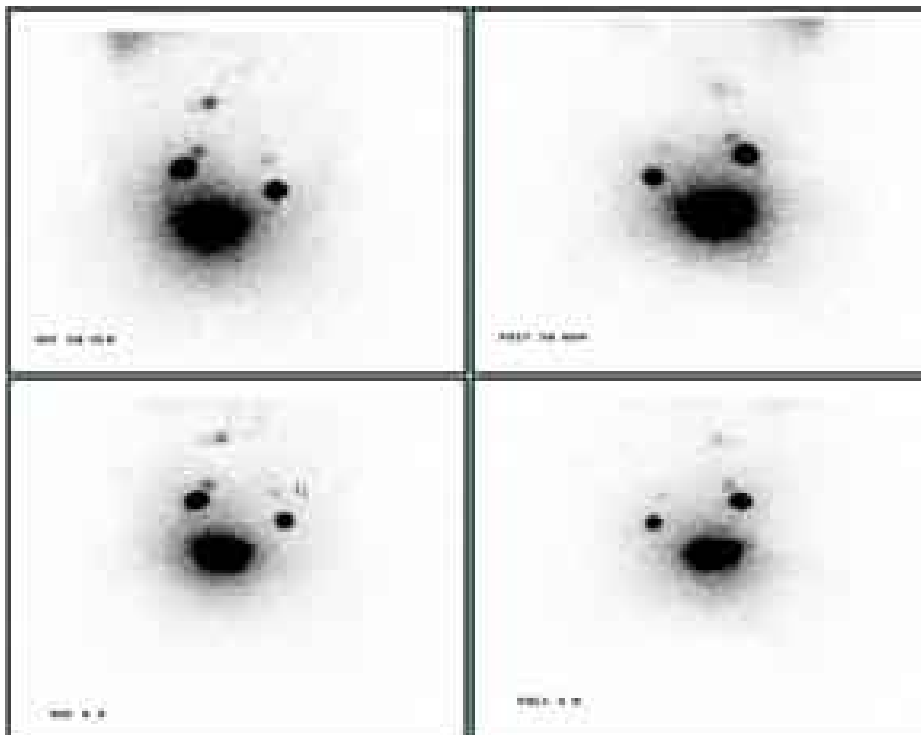


Figura nº6 Linfogramagrafía. Mapa linfático que señala la presencia de ganglios centinela en ambas fosas ilíacas en un carcinoma cervical uterino.

4.1 Técnica.

Para la identificación intraoperatoria del ganglio centinela se puede utilizar la sonda colimada manual o la laparoscópica (Figura nº 7). Su detección exige además el conteo de cps mediante la sonda polar: en el caso que se presente positividad para la radioactividad en un grupo ganglionar debe procederse a su exéresis para el posterior aislamiento de cada una de las unidades linfáticas que nos permita proceder nuevamente al conteo de cps de cada uno de los nódulos, con el fin de identificar al más radioactivo y por tanto el ganglio centinela.

En el momento de la cirugía, después de la inducción de la anestesia general,



Figura n°7 Sonda polar laparotómica que permite el conteo de cps. Detalle del extremo de la sonda.

mediante un especulum que nos permita visualizar todo el cervix, se inyectan aproximadamente 2-4 ml. de isosulfan blue-dye (Lymphazurin 1%) de forma superficial alrededor del tumor en las mismas localizaciones en que se inyectó el trazador. Figura n° 8. El ganglio centinela se detecta antes de abrir el peritoneo usando una sonda manual (Europrobe ®) o laparoscópica (Navigator ®, Auto-Suture), y seguidamente el tejido ganglionar es examinado visualmente por su tinción azulada, y de forma audible mediante las señales del captador. Se considera ganglio centinela cuando las cuentas por segundo son de al menos 10 veces por encima de los niveles basales. Figura n° 9. La posición de todos los ganglios centinelas es anotada en relación a los vasos iliacos y a su vez se etiquetan como azules, radioactivos o ambas cosas a la vez.

Tanto los ganglios que presentan positividad para la radioactividad como los que se



Figura n°8 Inyección de azul de isosulfan en los cuatro puntos peritumorales del cérvix uterino.



Figura n°9 Detección intraoperatoria del ganglio centinela: mediante sonda polar laparoscópica, conteo de cps, y la tinción del ganglio con el colorante azul.

identifican como azules son separados y sometidos a un minucioso examen histopatológico. Este consiste en tinción mediante hematoxilina-eosina (un porta por cada sección de 0,2 mm.), y en el caso que este estudio sea negativo las secciones son preparadas para un análisis inmunohistoquímico para citoqueratinas de amplio espectro (CK-88).

Después de la identificación del ganglio centinela, a todos los pacientes se les practicó una histerectomía radical (tipo II-III de Piver) con linfadenectomía pélvica y en algunos casos también paraaórtica. Un total de 28 pacientes fueron intervenidos mediante laparotomía y otros 12 por cirugía laparoscópica.

Un procedimiento técnicamente inadecuado fue definido como en el que ningún ganglio centinela pudo ser identificado, a causa de una defectuosa inyección de radioisótopo o del azul de isosulfan.

4.2. Pacientes

Entre Septiembre-2000 y Abril-2004, 40 pacientes afectas de cáncer cervical invasor estadio IA2-IIA “no bulky” fueron referidas a nuestra unidad para tratamiento quirúrgico consistente en histerectomía total radical y linfadenectomía. A todas las pacientes se les solicitó participar en el estudio, proporcionándoles la información mediante la firma del correspondiente consentimiento informado. La edad media de estas pacientes fue de 50,4 años con un rango de 34-78 años. La distribución por estadios fue de 2 en estadio IA2, 34 en IB1, 1 en IB2 y 3 en IIA (tabla nº I). Las diferentes características histo-patológicas de las pacientes se pueden observar en las tablas nº II y III. Las pacientes con “bulky tumors”, o las previamente sometidas a quimioterapia o radioterapia pélvica o cirugía linfática retroperitoneal fueron excluidas del estudio. Las pacientes previamente conizadas (45%) no representaron dificultades para la aplicación de la técnica del ganglio centinela (tabla nº IV). El tamaño de la lesión primaria fue inferior a 2 cm. en aproximadamente el 50% de las pacientes. El tipo histológico más frecuente fue el carcinoma escamoso en un 62,5% de casos seguido del adenocarcinoma que se presentó en un 30% de casos. En un 70% (28/40) de pacientes la obtención de los ganglios centinela se realizó mediante laparotomía, mientras que en el resto por laparoscopia . (tabla nº V).

TABLA nº I. Características clínicas de las pacientes.

Estadio FIGO	Nº Pacientes	%
IA2	2	5
IB1	34	85
IB2	1	2,5
IIA	3	7,5

TABLA nº II. Características patológicas de las pacientes.

Tipo histológico	Nº Pacientes	%
Ca escamoso	25	62,5
Adenocarcinoma	12	30
Sarcoma	1	2,5
Ca indiferenciado	1	2,5
Ca neuroendocrino	1	2,5

TABLA nº III. Características histológicas de las pacientes.

Grado histológico	Nº pacientes	%
G1	4	10
G2	22	55
G3	14	35

TABLA nº IV. Conización diagnóstica.

Conización previa	Nº pacientes	%
SI	18	45
NO	22	55

TABLA nº V. Procedimiento quirúrgico.

	Nº pacientes	%
Laparotomía	28	70
Laparoscopia	12	30

4.3. Resultados:

Se obtuvieron un total de 99 ganglios centinelas correspondientes a las 40 pacientes del estudio, de los cuales 79 se identificaron a practicar el mapa linfático mediante la linfogammagrafia, mientras la detección intraoperatoria señalo la presencia de 83 centinelas con la sonda polar y finalmente 70 fueron localizados con solo la tinción

del azul de isosulfan (tabla nº VI). La media de ganglios centinela detectados por cada paciente fue de 2,14 mediante la linfogammagrafía (n=37), de 2,24 mediante la detección con sonda polar durante la cirugía (n=37) y de 2,0 con la práctica del mapa linfático con blue dye en el acto quirúrgico (n=35), lo cual se halla detallado en la tabla VI-VII. Por lo tanto un total de detección media de 2,48 ganglios centinelas por cada paciente, valorando el conjunto de las tres técnicas (tabla nº VII). El número de ganglios centinela detectados intraoperatoriamente mediante tecnecio y/o azul se hallan reflejados en la tabla nº VIII. La posterior linfadenectomía pélvica efectuada en todas las pacientes representó una media de 20,83 ganglios por cada paciente. En un caso no fue posible identificar drenaje linfático en la linfogammagrafía ni tampoco durante la cirugía (no radioactividad, no tinción con el azul de isosulfan), probablemente debido a dificultades técnicas en la inyección peritumoral. En los seis casos en que no se identificó radioactividad en las áreas ganglionares fue posible la detección del ganglio centinela mediante el mapa linfático intraoperatorio con blue dye, lo cual permitió su exéresis únicamente con la tinción del nódulo linfático con el colorante azul. El mapa linfático con blue dye solo se realizó en 35 pacientes, no siendo posible en las cinco primeras de la serie por dificultades logísticas. Por otro lado en todas las siete pacientes en las que no se observó drenaje con el blue dye, el procedimiento con la sonda polar permitió la detección de todos los ganglios centinelas.

TABLA Nº VI. Detección de ganglios centinelas según diferentes procedimientos

	Linfogammagrafía	Cirugía Radioactividad	Azul (cirugía)	Radioact. + Azul (cirugía)
Nº pacientes	37	37	35	40
No drenaje	3	3	2	0
% drenaje	91,9	91,9	94,3	100
GCs detectados	79	83	70	99

TABLA n° VII. Promedio de ganglios centinela por paciente

	Linfogammagrafía	Sonda polar	Blue dye	Sonda + azul
Media	2,14	2,24	2.00	2,48
Rango	1-4	1-5	1-4	1-5

TABLA n° VIII. Detección de ganglios centinela intraoperatoriamente con tecnecio y azul

	Tecnecio +	Tecnecio -	TOTAL
Azul +	54	16	70
Azul -	29	0	29
TOTAL	83	16	99

De los 79 ganglios centinelas detectados mediante la linfogammagrafía en 37 pacientes, 87,34% se localizaron en la región interilíaca, ilíaca externa, obturatriz o presacra (69/79), mientras que un 10,13% se identificaron en el área de la arteria ilíaca común (8/79) y 2,53% en la correspondiente a la bifurcación aórtica (2/79). En el 43% de casos la linfogammagrafía mostró únicamente drenaje unilateral.

Durante el acto quirúrgico un total de 99 ganglios fueron detectados con una media de 2,48 nódulos linfáticos por paciente (rango 1-5). La más frecuente localización de estos ganglios centinelas extirpados fue la región interilíaca (49% de pacientes), la ilíaca externa (19%), la obturatriz (13%) y la ilíaca común (9%).

Usando la técnica del azul de isosulfan para la identificación intraoperatoria del ganglio centinela, un total de 70 ganglios azules fueron detectados en 33 pacientes con una media de 2.00 ganglios por paciente (rango 1-4), 54 azul y tecnecio positivos y 16 únicamente azul positivos (tabla n° IX). Siete pacientes no pudieron ser evaluadas mediante el azul de isosulfan, debido a una inadecuada inyección del blue dye (n=2) o los problemas logísticos del inicio de la serie (n=5). En estas siete pacientes los ganglios

centinela fueron detectados durante la linfogammagrafía. De los 70 ganglios azul positivos, 60 (85,71%) se localizaron en la región interiliaca, iliaca externa o del nervio obturador, cuatro (5,7%) en el área correspondiente a la iliaca común, y sin embargo ninguno en la bifurcación aórtica. Como resumen de las localizaciones de todos los ganglios centinelas durante el acto quirúrgico, o sea detectados mediante tecnecio y azul de isosulfan, un total de 85,85% se localizaron en la región interiliaca, iliaca externa, obturatriz o parametrial (85/99), un 9,1% en el área correspondiente a los vasos ilíacos comunes (9/99) y un 2% en la bifurcación aórtica (2/99).

TABLA n° IX. Relación entre el método de identificación y la localización pélvica del ganglio centinela.

Localización	Tc + azul	Tecnecio	Azul	Total
Iliaca común	3	5	1	9
Iliaca externa	12	6	1	19
Interiliaca	26	14	9	49
Obturador	8	1	4	13
Parametrial	2	1	1	4
Bifurcación aórtica	0	2	0	2
Región presacra	3	0	0	3
TOTAL	54	29	16	99

Las características de los 99 ganglios centinelas identificados durante la cirugía mediante la combinación del radio isótopo y el mapa con blue dye han sido previamente comentados y mostrados en la tabla n° 8. Después de completar la linfadenectomía pélvica y en algunos casos para-aórtica como corresponde al protocolo de cirugía radical del cáncer de cervix en estadios iniciales, se obtuvieron un total de 858 ganglios linfáticos, incluyendo los ganglios centinela, lo que corresponde a una media de 20,83 ganglios por paciente, con un rango de 5-34.

Mediante el estudio histopatológico se hallaron metástasis en seis ganglios

centinela correspondiente a cuatro pacientes, lo que representa un 10% de casos, siendo estos nódulos linfáticos los únicos que fueron histológicamente positivos en estas cuatro pacientes. Puede observarse el esquema de distribución anatómica de los seis ganglios histológicamente positivos, correspondientes a las cuatro pacientes en la figura n° 10. En las otras 36 pacientes todos los ganglios linfáticos extirpados (n=759) mediante linfadenectomía pélvica con o sin linfadenectomía para-aórtica no presentaron afectación metastásica. Por consecuencia en esta serie con bajo rango de metástasis ganglionar (prevalencia del 10%, 4/40 de las pacientes) tanto la sensibilidad como la especificidad de la técnica del ganglio centinela fue del 100%.



Figura n°10 Esquema de la distribución anatómica en la pelvis de los 6 ganglios centinela histológicamente positivos, correspondientes a 4 pacientes, detectados intraoperatoriamente mediante sonda polar y color azul.

Con respecto a la identificación del ganglio centinela, en seis de las 40 pacientes el ganglio centinela fue identificado exclusivamente por el color azul, en tres casos debido

a un fallo en el drenaje del radioisótopo y en los otros tres a causa de que no se realizó el estudio mediante tecnecio. En estas seis pacientes todos los ganglios centinelas identificados mediante coloración azulada fueron histopatológicamente negativos, así como el resto de ganglios no centinela extirpados al completar la posterior linfadenectomía. Sin embargo una de estas pacientes desarrolló más tarde metástasis pulmonares en la evolución de su enfermedad. Por otro lado, siete pacientes no mostraron drenaje del blue dye, en dos casos por posible dificultad de la inyección del colorante, y en cinco porque esta no pudo realizarse. En estos siete casos, se identificaron dos ganglios centinela mediante tecnecio que posteriormente resultaron ser histológicamente positivos. Desde el punto de vista de la linfogammagrafía los ganglios centinelas se definen como los nódulos que más pronto se presentan con más alta radioactividad en las imágenes obtenidas. Estos nódulos corresponden siempre a los resecaos durante la cirugía. Comparando las imágenes tempranas (15-30 minutos) con las tardías (2-3 horas), en 22 casos fueron identificados exactamente el mismo numero de ganglios centinelas. Las imágenes tardías permitieron identificar un ganglio centinela más en seis pacientes, y dos centinelas más en otros tres casos. No fue posible obtener imágenes precoces en nueve pacientes. La mayoría de casos, se presentaron en la linfogammagrafía más nódulos con menor traducción de la radioactividad, cercanos a los ganglios centinela, los cuales fueron considerados como ganglios satélites.

No se observaron diferencias entre el procedimiento quirúrgico laparoscópico y la cirugía abierta con respecto a la detección del ganglio centinela, así como tampoco con las complicaciones quirúrgicas o a las tasas de supervivencia. Infortunadamente una paciente falleció debido a un trastorno hemorrágico en la unidad de cuidados intensivos después de un procedimiento quirúrgico consistente en cirugía abierta.

La media de seguimiento para el total de las 40 pacientes fue de 25 meses (rango 2-45). Durante este periodo de seguimiento (tabla nº X), metástasis a distancia fueron

observadas solamente en dos pacientes. Una de ellas, estadio FIGO IB1 >2 cm. recibió quimio-radioterapia concomitante y que falleció a los seis meses después de la cirugía, presentaba enfermedad ganglionar metastásica en dos de los tres ganglios centinela, todos ellos identificados mediante tecnecio y azul. La segunda paciente, que también presentó estadio FIGO IB1 >2 cm., no obtuvo drenaje en la práctica del mapa linfático mediante la linfogammagrafía y fue negativo para el azul de isosulfan, pero que en el conjunto de ganglios extirpados durante la linfadenectomía no señalaron afectación histológica, dos años después de la cirugía presentó metastásis pulmonares sin evidencia de afectación ganglionar o de la cavidad peritoneal mediante la práctica de resonancia magnética. Esta paciente fue tratada con quimioterapia, y se halla viva y libre de enfermedad cuatro años después de la intervención quirúrgica.

En resumen, la tasa de supervivencia global en este grupo de cuarenta pacientes sometidas a la técnica del ganglio centinela es del 95% y la tasa del periodo libre de enfermedad del 97%. Las otras tres pacientes con ganglios centinela positivos se hallan en este momento vivas y libres de enfermedad.

TABLA nº X. Resultados del seguimiento de las pacientes de esta serie en relación con la detección del ganglio centinela.

	Centinela negativo	Centinela positivo	TOTAL
Nº pacientes	36	4	40
Promedio centinela	2,4	2,7	2,48
Nº ganglios	93	6	833
Seguimiento (meses)	25	40	25,67
Supervivencia l.enf.	---	---	37/38 (97,4%)
Supervivencia	---	---	38/40 (95%)

De esta serie de 40 pacientes, a 18 de ellas les fue practicada previamente una conización para el diagnóstico. No se observó drenaje únicamente en dos de ellas (11%). Evidentemente en estas pacientes conizadas puede resultar difícil en algunas ocasiones la inyección del radioisótopo o del colorante, probablemente debido a la cicatriz cervical. Sin embargo comparando las pacientes con o sin previa conización no se han encontrado diferencias en cuanto a los resultados de identificación del ganglio centinela así como tampoco en las tasas de complicaciones o de supervivencia.

4.4. Discusión

A la vista de los resultados previamente expuestos, podemos afirmar que la realización del mapa linfático mediante la linfogammagrafia, y la consiguiente detección del ganglio centinela en pacientes afectas de carcinoma cervical uterino en estadios precoces no sólo es posible, sino que también es relativamente sencilla, inocua y exenta de complicaciones. La detección mediante Tecnecio-99-nanocoloide del ganglio centinela presenta un porcentaje más elevado que la detección con sólo isosulfan. En los tres casos en los cuales el procedimiento con isótopos falló en cuanto a la detección del ganglio centinela ocurrieron al inicio de la técnica, y podrían ser considerados como parte del período de aprendizaje. El éxito en los resultados de las distintas posibilidades de efectuar mapas linfáticos es operador dependiente y se halla fuertemente ligado a su experiencia. Es necesaria una importante colaboración interdisciplinaria, o sea una estrecha relación tanto por parte del ginecólogo oncólogo que ha de realizar la inyección peritumoral mediante colposcopia como por la del especialista en medicina nuclear que realiza e interpreta las imágenes. La existencia de un buen equipo es crucial para alcanzar los objetivos de cirugía menos agresiva y un alto porcentaje de detección de ganglio centinela para un más adecuado diagnóstico de las pacientes.

La técnica de la biopsia de ganglio centinela de los estadios iniciales del cáncer cervical es una técnica quirúrgica prometedora en el sentido de poder confirmar el estado ganglionar, lo cual nos permite poder minimizar la morbilidad post-operatoria, con la posibilidad de poder evitar una innecesaria linfadenectomía ante la presencia de ganglios centinelas histológicamente negativos. Un importante número de autores han publicado estudios sobre la detección del ganglio centinela en estadios precoces del carcinoma cervical ya sea mediante la inyección de blue dye o de radioisótopo o con la combinación de ambos. En este sentido, en 1999, Echt et al. (60) fueron los primeros en publicar que el colorante azul era útil para identificar los ganglios centinela que se obtenían del drenaje de canceres de vulva y cervix. En el mismo año Medl et al (70) en 3 casos de cáncer de cervix inicial demostró que el azul de isosulfan inyectado para-cervicalmente en cada parte lateral del fornix inmediatamente antes de iniciar la cirugía permitía identificar dos o tres ganglios teñidos de azul (centinelas) por paciente. Por el contrario O'Boyle et al. (71) utilizando inyección intracervical de isosulfan blue dye en 20 pacientes, señalaba un bajo índice de identificación del ganglio centinela, del orden del 60%. Metcalf et al. (72) hizo seguimiento de 350 casos de cáncer cervical estadio IB-IIA concluyendo que “el concepto de ganglio centinela o de un grupo de ellos no era sostenible”. En resumen, hemos podido constatar que inicialmente la tinción mediante blue dye fue utilizada únicamente en cirugía abierta para orientar la biopsia del ganglio centinela permitiendo tasas de identificación entre 15,4% y el 60% (60,71). En el año 2000, fueron Dargent et al (73) quienes introdujeron el procedimiento laparoscópico para la detección intraoperatoria del ganglio centinela, en una serie de 35 pacientes, tras la inyección peritumoral de “patent blue violet”, con una tasa de fallos de identificación del 14,5%, lo cual ellos atribuían principalmente a una cantidad insuficiente de inyección del colorante azul. Verheijen et al (74) utilizaron por primera vez la linfogammagrafía preoperatorio mediante albúmina coloide tecnecio-99 y la inyección de blue dye al inicio de la cirugía en 10 pacientes con cáncer cervical estadio

IB en los cuales la detección intraoperatoria con sonda polar tuvo éxito en ocho de ellas y la identificación visual fue posible en únicamente cuatro pacientes. En el mismo año, Kamprath et al (75) practica identificación mediante linfogammagrafía y consiguiente detección intraoperatoria del ganglio centinela con sonda polar, en una serie de 18 pacientes también en estadios precoces de cáncer cervical con una tasa e identificación del 89%. En un estudio sobre 50 pacientes afectas de carcinoma cervical estadio FIGO I-IV publicado por Malur et al (76), los cuales mediante una combinación de albúmina marcada radioactivamente y de blue dye alcanzaron un índice de detección del 78%. Sin embargo la validez clínica de este estudio es cuestionable, habido en cuenta que las pacientes con estadio FIGO III-IV o las con “bulky tumor” estadios I-II de la enfermedad son candidatas para quimioterapia concomitante con radioterapia, previa realización de linfadenectomía aórtica retroperitoneal por laparoscopia. Posteriormente, Levenback et al (78) en una serie de 39 pacientes a las que practicaron linfogammagrafía preoperatoria mediante la inyección de tecnecio-99 radiocoloide y la realización intraoperatoria de mapa linfático mediante blue dye, publican que la sensibilidad del procedimiento es del 87,5% y el valor predictivo negativo del 97%. El estudio de van Dam et al (81) señala una tasa de detección del ganglio centinela del 84% en una serie de 25 pacientes con sólo la inyección de radioisótopo, sin encontrar ganglios linfáticos falso negativos. En el estudio de Lambaudie et al (82), usando la combinación de la inyección de colorante azul y la inyección de tecnecio radiocoloide, y mediante la identificación del ganglio centinela vía laparoscópica en una serie de 12 pacientes muestra un valor predictivo negativo del 90%. Estos autores identifican 35 ganglios centinela de los cuales 3 fueron histológicamente positivos y uno de ellos, falso negativo. El valor predictivo positivo fue del 100% pero, tal como hemos señalado anteriormente el predictivo negativo fue solo del 90%, probablemente porque las técnicas realizadas al principio de la curva de aprendizaje, tal como dichos autores mencionan.. En los estudios de Kamprath et al (75) y Lantzsch et al

(77), la tasa de detección es del 88,8% y del 93%, respectivamente, con ningún caso de falsos negativos. Todos estos resultados de la literatura pueden ser comparados con los del presente estudio en la tabla nº11. Con todo hay que remarcar, también afirmado por otros autores, que el radioisótopo permite identificar nódulos linfáticos en áreas lejanas a la pelvis que de otra manera no hubiesen sido extirpados durante el tratamiento quirúrgico habitual del carcinoma cervical.

Marchiole et al. (86) han publicado recientemente un estudio con 39 pacientes de las cuales tres presentaron ganglios centinelas positivos y en otras tres se hallaron metástasis en los ganglios pélvicos a pesar de presentar hallazgos negativos en la biopsia del ganglio centinela. Esto pone de manifiesto un relativo bajo porcentaje de ganglios centinela positivos (7,7%) con un también bajo valor predictivo negativo (87,5%). Estos valores son algo inferiores a los descritos en otras series.

Barranger et al (84) hace énfasis en distintas publicaciones de que en el cáncer cervical el estado de los ganglios linfáticos regionales es uno de los más importantes factores pronósticos y el más adecuado criterio para el uso de terapias adyuvantes. Afirman que el procedimiento del ganglio centinela basado en el blue dye o en el radio-coloide resulta muy adecuado para la evaluación de la afectación ganglionar. Buist and Pijpers en dos recientes publicaciones (91-92) revisan 34 pacientes con cáncer cervical. El porcentaje de ganglios centinela positivos (35%) era marcadamente más elevado que en otras series publicadas. Estos hallazgos clínicos sugieren que probablemente algunas de las pacientes incluidas en este estudio presentaban estadios más avanzados de la enfermedad. De hecho la técnica del ganglio centinela puede resultar realmente interesante en pacientes con enfermedad inicial (estadios FIGO I o IIA, no bulky), en las cuales se ha indicado cirugía radical. Torné et al (88) publican en una serie de 18 pacientes con una tasa de detección para el ganglio centinela del 94%, encontrando positividad histológica ganglionar en dos casos, pero sin hallar ninguno de falso negativo. Niikura et al. (87) publican recientemente

una serie de 20 pacientes con estadio precoz de cáncer cervical, alcanzando una tasa de detección cercana al 100% utilizando la combinación de tecnecio y blue dye, sin presentar falsos negativos. Los autores concluyen que la biopsia del ganglio centinela es menos agresiva que la linfadenectomía pélvica completa y disminuyen así mismo la morbilidad post-operatoria y los costes económicos. Angioli et al. (94), sin embargo obtienen inferiores tasas de detección mediante la linfogammagrafía (89%) y durante la cirugía (70%) que otros grupos sin utilizar colorante azul.

Las recientes publicaciones de Lin et al. (95) sobre 30 pacientes usando el radiocoloide señalan que obtienen una tasa de detección del ganglio centinela del 100% sin falsos negativos, mientras que Silva et al. (96) con el mismo procedimiento radioactivo alcanza el 92,8%. Interesante también el trabajo de Rob et al (97) los cuales incluyen 183 pacientes divididas en dos métodos de detección: 100 casos con “patent blue” y 86 casos añadiendo además tecnecio 99, encontrando solo un ganglio centinela histológicamente falso negativo situado en la región presacra, y concluyendo que la combinación de radioisótopo y blue dye permitió estadísticamente significativas mejores tasas de detección.

La publicación de Di Stefano y colaboradores (98), la última del año 2005 se refiere a un estudio sobre 50 pacientes en las cuales se practicó un mapa linfático mediante la inyección de 4 ml. de azul de metileno sin ayuda de radioisótopo con una alta tasa de detección del 90% y con solo un falso negativo.

En la tabla nº XI, los resultados del presente estudio se comparan con los datos previamente publicados en la literatura por otros autores. En nuestra serie de 40 pacientes, 12 de ellas mediante procedimiento laparoscópico los resultados son similares a los estudios previamente publicados (85-89). En nuestro estudio, todos los ganglios hallados como histológicamente positivos fueron siempre previamente identificados como ganglios centinela, y a su vez, del total de ganglios no centinela, extirpados en la linfadenectomía

propia de la cirugía radical, ninguno de ellos presentó afectación histológica, y por tanto con un valor predictivo negativo del 100%. Un total de seis ganglios, correspondientes a cuatro pacientes, se encontraron con histología positiva utilizando tecnecio y colorante azul. En un caso se encontró el ganglio centinela en la región parametrial, evidentemente identificado al finalizar la histerectomía radical, puesto que en esta localización el ganglio centinela no puede nunca ser detectado fácilmente por la sonda polar o la tinción azul a causa de la proximidad con el tumor cervical y área peritumoral que siempre presentan elevados índices de radioactividad e intensa coloración azul. De acuerdo con la experiencia de Levenback et al. (78) y de otros autores se obtiene siempre una más alta tasa de detección del ganglio centinela mediante la combinación del radio-isótopo y de la inyección de blue dye.

TABLA nº XI. Resultados comparativos de la detección del ganglio centinela en las series publicadas de la literatura.

Tècnica utilizada: L= linfogammagrafía. Tc= tecnecio. BD= blue dye.

Nº GC = número de ganglios centinela detectados

% det = % de detección intraoperatoria del ganglio centinela

Pac G + = pacientes con ganglios centinela histológicamente positivos

F = número de ganglios falsos negativos.

n d = no determinado en la publicación

Autor	Año	L	Tc	BD	Nºpac.	Nº GC	% det.	Pac G +	F (-)
Echt (60)	1999	-	-	+	13	n d	15,4	2	1
Medl (70)	1999	-	-	+	3	2-3/p	100	Todos +	0
O'Boyle (71)	2000	-	-	+	20	23	60	3	1
Dargent (73)	2000	-	-	+	35	63	100	8	0
Verheijen (74)	2000	+	+	+	10	n d	80	1	0
Kamprath (75)	2000	+	+	-	18	n d	89	1	0
Malur (76)	2001	+	+	+	50	123	78	6	1
Lantzsich (77)	2001	+	+	-	14	26	93	1	0
Levenback (78)	2002	+	+	+	39	132		7	4
Rhim (79)	2002	+	+	+	26	49	100	n d	1
Plante (80)	2003	+	+	+	70	135	87	n d	2
Van Dam (81)	2003	+	+	-	25	21	84	n d	-
Lambaudie (82)	2003	+	+	+	12	35	91,7	2	1
Chung (83)	2003	+	+	+	26	n d	100	6	0
Barranger (84)	2004	+	+	+	18	44	100	5	0
Mtnez-Palones(85)	2004	+	+	+	25	61	100	4	0
Marchiole (86)	2004	+	+	+	29	n d	100	3	1
Niikura (87)	2004	+	+	+	20	46	90	2	1
Torne (88)	2004	+	+	+	18	n d	94	2	0
Paredes (90)	2004	+	+	+	17	33	94	2	0
Pijpers (92)	2004	+	+	+	34	74	97	12	1
Gil-Moreno (89)	2005	+	+	+	12	20	100	0	0
Anglioli (94)	2005	+	+	-	37	n d	70	6	0
Lin (95)	2005	+	+	-	30	n d	100	7	0
Roca (93)	2005	+	+	+	40	99	100	4	0
Silva (96)	2005	+	+	-	56	120	92,8	17	0
Rob (97)	2005	+	+	+	183	462	93	20	1
Di Stefano (98)	2005	-	-	+	50	86	90	10	1
TOTAL	---	---	---	---	930				

Análisis de todas las series publicadas hasta el año 2005 revelan un total de 930 pacientes a las cuales se le ha aplicado el estudio del mapa linfático en el cáncer inicial del cervix, ya sea mediante la tinción linfática con el colorante azul, con la inyección tumoral de tecnecio-99 nanocoloide o con la combinación de ambos procedimientos. El minucioso estudio de todas estas publicaciones nos ofrece unos resultados altamente satisfactorios, con cifras de identificación del ganglio centinela cercanas al 100%, pero además con valores predictivo negativos de casi el 100%, y por consiguiente, la presencia de niveles bajos (<1,5%) de falsos negativos desde el punto de vista histopatológico, lo cual nos permite afirmar, tal como ha ocurrido en el tratamiento del carcinoma mamario, que en un futuro próximo esta técnica será validada, y por tanto nos permitira contraindicar el tratamiento mediante cirugía radical, de ls pacientes que presentan ganglios centinela positivos al estudio histológico preoperatorio.

La conización cervical previa al procedimiento del ganglio centinela en el carcinoma cervical no representa un problema para esta técnica, aunque debe tenerse en cuenta que la inyección mediante el tecnecio nanocoloide y el azul de isosulfan deben ser realizadas de forma precisa en el área periférica del cervix restante. En nuestra serie esto acaeció en 18 casos lo cual representa el 45% de procedimientos, no detectando incremento de fallos de identificación en estos casos. De la misma manera que otros autores (73-78) tampoco han mostrado dificultades de detección del centinela en estas pacientes previamente conizadas. Además es importante tener en cuenta que en nuestra serie la conización cervical se realizó únicamente con intención diagnóstica.

No se observaron efectos adversos excepto en un caso de saturación del pulso-oximetría transitoria inmediatamente después de la inyección de azul de isosulfan, dependiendo siempre de la dosis inyectada, el cual no requirió tratamiento. Otros autores también han publicado este efecto adverso, siempre transitorio con una incidencia de alrededor del 3% (78, 80, 99).

En la presente serie después de la identificación laparoscópica mediante inyección de blue dye y albúmina radioactiva, se continuó con la cirugía radical en este grupo de pacientes consistente en linfadenectomía pélvica y histerectomía radical tipos II y III de Piver, siempre completándolo mediante el abordaje laparoscópico. Barranger et al. (84) son los únicos en publicar su experiencia en la cual 13 pacientes fueron sometidas a la detección del ganglio centinela con la combinación de radio-coloide y “patent blue dye” seguida de linfadenectomía pélvica laparoscópica completa y así mismo histerectomía radical laparoscópica o de la operación vaginal de Schauta-Amreich. Como otros autores señalan (76,89) la cirugía radical totalmente laparoscópica evita la incisión de Schuchardt que habitualmente se practica durante la histerectomía radical vaginal. Por otro lado la histerectomía radical totalmente laparoscópica potencia la disminución de la morbilidad peroperatoria y postoperatoria, disminuye la pérdida hemática, mejora los resultados estéticos y facilita una más pronta recuperación (77,89). La histerectomía radical y la disección ganglionar se pueden efectuar con distinto número de procedimientos, aunque siempre ha sido defendido que el elemento más importante no es el tamaño de la incisión sino el grado de experiencia quirúrgica. La mayoría de autores han señalado siempre que la práctica de la histerectomía radical laparoscópica debe estar reservada para cirujanos oncológicos bien entrenados en múltiples procedimientos laparoscópicos (102-103). Además de esta facilidad técnica para la histerectomía radical totalmente realizada por laparoscopia el estudio de esta serie demuestra la inocuidad del procedimiento, incluso durante la fase de aprendizaje de la técnica. El tiempo operatorio fue algo más prolongado pero la identificación del ganglio centinela no presentó diferencias significativas, y sin embargo el procedimiento radical laparoscópico se asoció a una importante disminución de la estancia hospitalaria (del orden de 5,25 días) muy similar a lo publicado por otros autores (100,102,103) o a lo señalado como duración de la hospitalización en otras series en las que se practica la histerectomía vaginal asistida por laparoscopia.(23)

No se encuentran diferencias significativas respecto al número y localización de los ganglios centinelas detectados mediante laparotomía o laparoscopia. Sin embargo en este último procedimiento permite una visión más clara y una mayor facilidad en la identificación de la coloración azulada de los nódulos así como también de los vasos linfáticos aferentes. Diferencias que no se encuentran cuando intentamos la detección mediante sonda polar del ganglio centinela en procedimientos quirúrgicos abiertos o laparoscópicos.

Hasta el presente la detección intraoperatoria del ganglio centinela o el desarrollo de mapas linfáticos a partir de la linfogammagrafía en los casos de cáncer cervical en estadios precoces no modifica el subsiguiente procedimiento terapéutico, puesto que la morbilidad presente tras la linfadenectomía pélvica es siempre poco evidente, y que además hay que tener presente que, mientras no se demuestre lo contrario, la exéresis de los ganglios linfáticos regionales puede tener connotaciones terapéuticas. La introducción de nuevas tecnologías de imagen tales como la tomografía con emisión de positrones (PET-scanner) podrá probablemente modificar y mejorar el estadiaje clínico previo a la decisión quirúrgica.

4.5. Conclusiones

La práctica de la linfogammagrafía seguida de la detección intraoperatoria del ganglio centinela mediante Tc-99-nanocoloide y azul de isosulfán es factible y sencilla de realizar, ya sea en el contexto de la laparotomía o de la laparoscopia. Las seis metástasis ganglionares linfáticas identificadas en cuatro pacientes se detectaron usando el tecnecio, el blue-dye o la combinación de ambos. En nuestra serie, la utilización de ambos métodos aporta unos resultados del 100% de tasa de detección, y con un valor predictivo negativo de también el 100%.

Sin embargo, como sucede siempre en la aplicación de estos recientes procedimientos diagnósticos, la posibilidad de mayor número de estudios sobre los mapas linfáticos, y sobre todo de series más amplias de pacientes nos permitirán su validación para la práctica clínica, aunque a la vista de estos resultados, en los casos de cáncer cervical uterino el mapa linfático obtenido mediante la linfogammagrafía y su posterior detección intraoperatoria mediante el tecnecio-99 combinado con el azul de isosulfán se halla muy cerca de alcanzar esta validación para su aplicación en la práctica diaria.

En un futuro inmediato, y cuando la técnica haya sido validada, al encontrarnos frente a pacientes afectas de cáncer de cervix en estadios iniciales, procederemos como es habitual a un meticuloso estadiaje clínico, completándolo después con la radiografía torácica, analítica completa, con el marcador tumoral SCC, sin descuidar la resonancia magnética, la cual nos informará del tamaño tumoral, posible infiltración parametrial e hidronefrosis, etc. Si se descarta la presencia de un “bulky tumor”, el cual requiere otros esquemas terapéuticos, podremos proceder seguidamente a la práctica de un completo mapa linfático, que tal como hemos previamente indicado, requiere de la linfogammagrafía, y la detección intraoperatoria del ganglio centinela con la sonda polar y la tinción de los linfáticos con el colorante azul. Todo ello mediante un minimamente invasivo abordaje laparoscópico, que nos permite una pronta recuperación de la paciente para no retrasar los subsiguientes tratamientos. Si al o a los ganglios centinelas extirpados se les somete peroperatoriamente a un examen histológico, el resultado únicamente nos permitirá dos opciones terapéuticas. Cuando el estudio anátomo-patológico no encuentre afectación microscópica del ganglio centinela, deberemos continuar la laparoscopia y efectuar una cirugía radical con linfadenectomía, que en los casos de tumores inferiores a 2 cm. podemos permitir que sea algo menos radical. Pero, en cambio, cuando la biopsia intraoperatoria nos muestre la presencia de células tumorales en los ganglios centinela, significa que la enfermedad se halla extendida fuera del útero, lo cual nos hace pensar que

es mejor para el pronóstico de la paciente interrumpir la cirugía radical y orientarla en estos casos a un tratamiento neo-adyuvante de quimio-radioterapia concomitante, puesto que sabemos positivamente que la suma de la cirugía radical y de la radioterapia no mejora los índices de supervivencia en este grupo de pacientes con estadios precoces de cáncer cervical. Véase esquema de futuro protocolo terapéutico después de la detección vía laparoscópica del ganglio centinela en estadios precoces de cáncer cervical uterino en la figura nº 11.

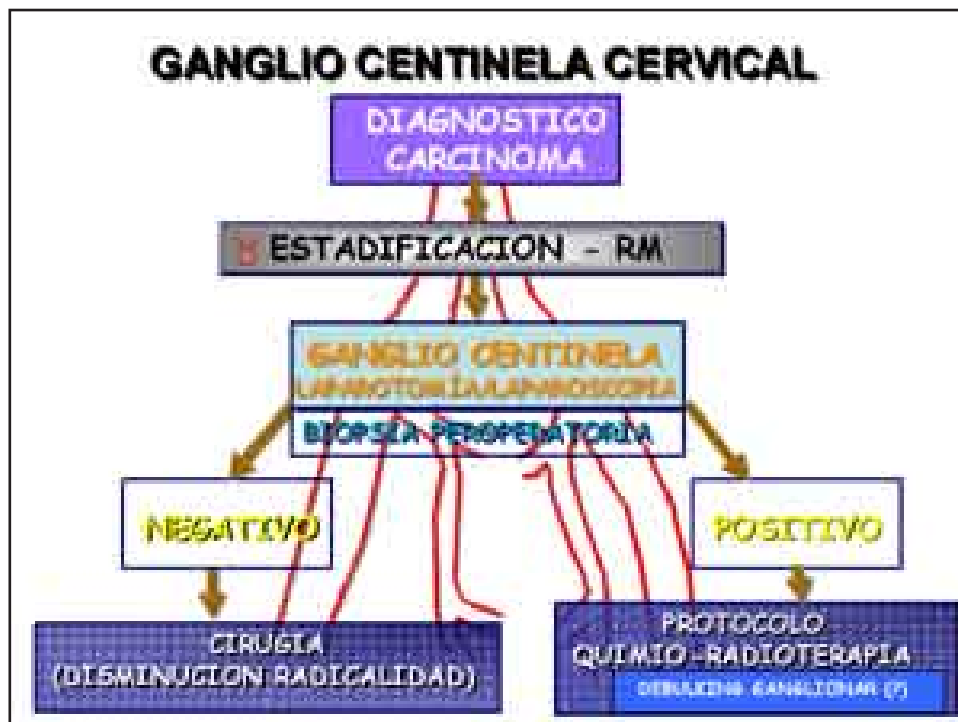


Figura nº11 Esquema de protocolo terapéutico del cáncer de cérvix en estadios iniciales, por vía laparoscópica, y después de la detección del ganglio centinela.

5. CASOS CLÍNICOS

5.1 Caso clínico nº 1

Una mujer de 59 años de edad con antecedentes de dos gestaciones y partos normales fue remitida a nuestro Hospital a causa de presentar dolor abdominal de predominio pélvico y pérdidas post-coitales de dos meses de evolución. La exploración clínica reveló un tumor cervical uterino de aproximadamente 4 cm de diámetro con afectación parametrial bilateral. La colposcopia confirmó estos hallazgos y permitió una biopsia, cuyo resultado anatomopatológico señaló la presencia de un adenocarcinoma endocervical escasamente diferenciado. La pielografía mostró la presencia de uretero-hidronefrosis bilateral con función renal normal. Al no existir afectación de la vejiga ni del recto, se catalogó como un carcinoma cervical estadio FIGO IIIB. La resonancia magnética abdomino-pélvica mostró un “bulky” tumor cervical originado en el labio posterior de 4,5x 4x 4 cm. con afectación de ambas regiones parametriales pero sin la presencia de enfermedad peritoneal o pélvica. Figura nº 12.



Figura nº12 Resonancia magnética: imagen del tumor cervical “bulky” antes del tratamiento. Mioma uterino fúndico.

Antes de orientar la paciente al tratamiento radioterápico se procedió a la práctica de una linfadenectomía para-aórtica retroperitoneal mediante laparoscopia. Como es habitual en este tipo de cirugía siempre se procede previamente a realizar una laparoscopia abdominal transperitoneal de tipo convencional para descartar la presencia de carcinomatosis y para poder controlar la formación del retro-neumoperitoneo en la zona del psoas; se precisó la colocación de dos trocares, uno de 11 y otro de 5 mm., en la zona umbilical y en la fosa ilíaca derecha, respectivamente. Para la linfadenectomía laparoscópica extraperitoneal se usaron tres trocares: un trocar de 11 mm. fue insertado 2 cm por encima y por delante de la espina ilíaca superior izquierda, y los otros dos (11 mm y 5 mm) fueron situados en la línea axilar media izquierda. En ambos procedimientos laparoscópicos el CO₂ fue insuflado a 12 mm. Hg. de presión. Los ganglios linfáticos fueron extraídos mediante una bolsita plástica. La citología de lavados peritoneales resultó negativa para células malignas. Los ganglios linfáticos extirpados fueron examinados histológicamente con hematoxilina-eosina y mediante inmunohistoquímica para citoqueratinas para detectar posibles micrometástasis. El examen microscópico reveló metástasis en uno de los 10 ganglios extirpados.

A la vista de estos resultados la paciente fue tratada con cuatro ciclos de cisplatino semanal (40 mg/m²) y radioterapia externa usando fotones de alta energía sobre la pelvis y la región para-aórtica con una dosis total de 45 Gy y una posterior braquiterapia de 9 Gy. Evidentemente los lugares en los cuales los trocares fueron colocados se incluyeron en los campos de radiación. El estudio mediante Resonancia Magnética abdomino-pélvica posterior reveló una completa resolución del tumor primario. Figura n 13.

La paciente permaneció libre de enfermedad durante los siete meses posteriores a la finalización del tratamiento quimio-radioterapia concomitante, cuando presentó una tumoración abdominal de 2,5 cm de diámetro, que coincidió, en la exploración ginecológica de control, con un aumento del tamaño del cervix uterino. La citología

cervical practicada en esta visita de seguimiento fue positiva para adenocarcinoma. Se procedió al estudio, mediante Resonancia Magnética, de la masa situada a nivel umbilical en la pared abdominal anterior, y al posterior tratamiento quirúrgico, consistente en la exéresis del tumor umbilical, incluyendo fascia y peritoneo, y a la colocación de una malla de Marlex para reparar la brecha producida en la fascia. Figura n° 14.

El examen histopatológico del tumor umbilical mostró un adenocarcinoma invasor escasamente diferenciado que incluía el peritoneo y la piel abdominal con márgenes

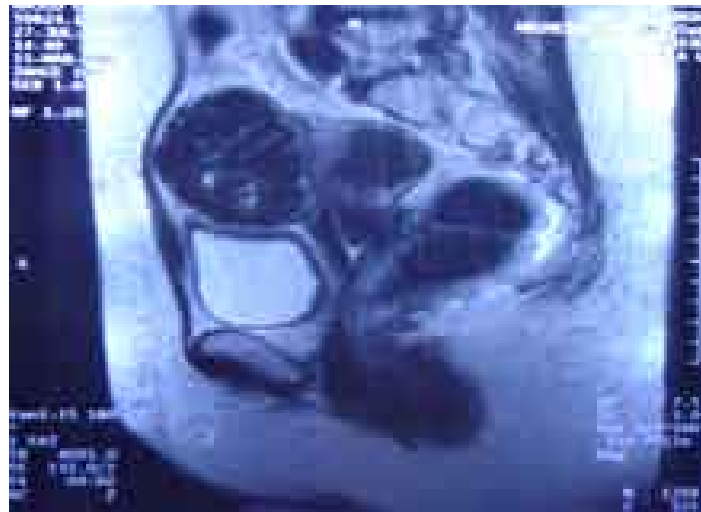


Figura n°13 Resonancia magnética: completa resolución del tumor después del tratamiento con quimio-radioterapia concomitante.



Figura n°14 Port site metástasis. Imagen del tumor umbilical y de la pieza después de su exéresis quirúrgica.

libres de tumor, y que presentaba similitud histológica con el tumor primario cervical. Figura nº 15. Se observó además un importante incremento de la “microvessel density” y una importante expresión inmunohistoquímica al CD31. Figura nº 16. Posteriormente, la paciente presentó un importante episodio de sangrado vaginal, lo cual precisó una embolización de las arterias uterinas. Finalmente la paciente rehusó tratamiento paliativo quimioterápico, falleciendo pocos meses después.

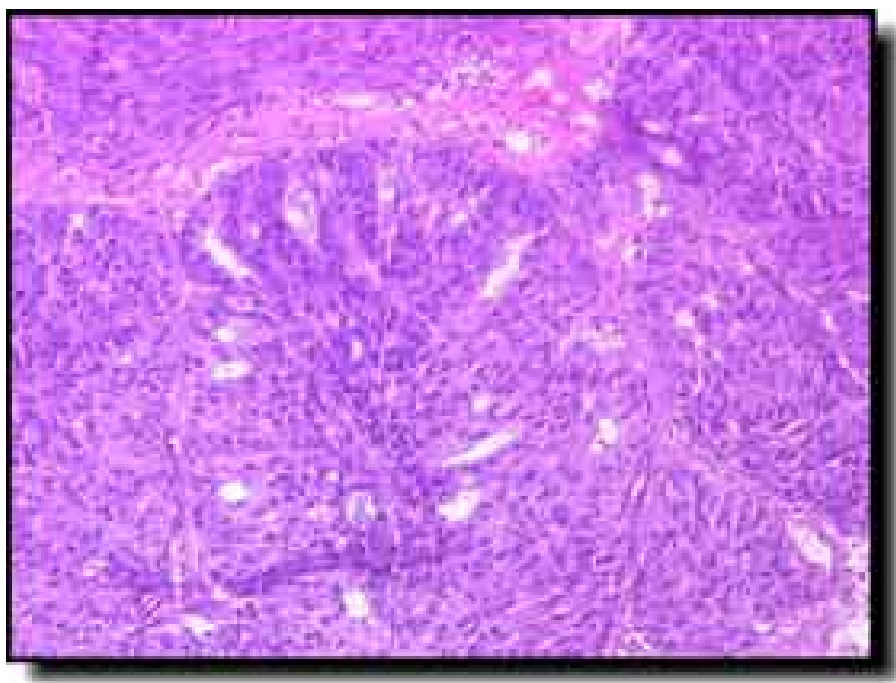


Figura nº15 Anatomía patológica. Adenocarcinoma invasor escasamente diferenciado.

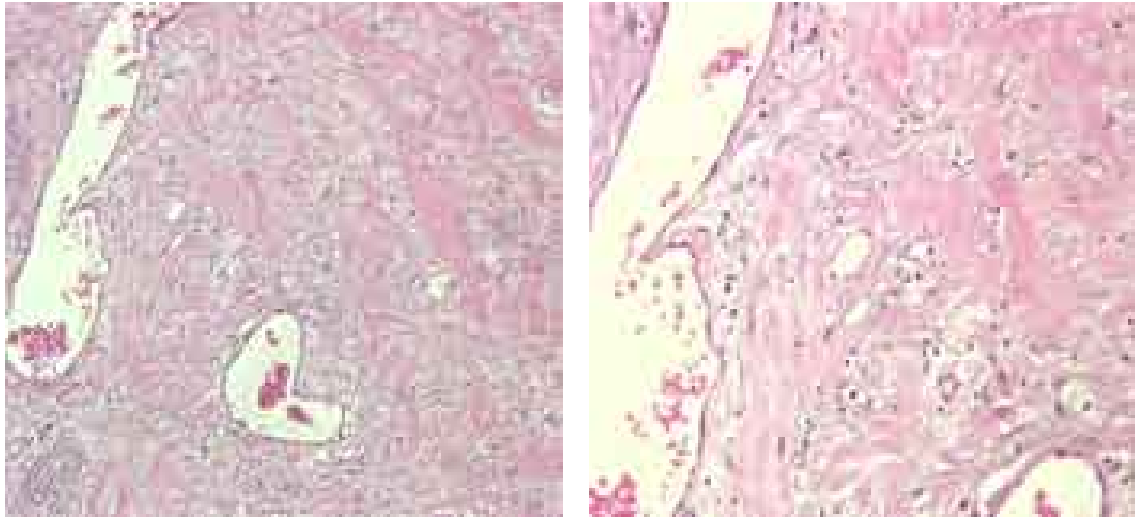


Figura nº16 Neoangiogénesis. Puede observarse la formación de nuevos vasos sanguíneos (aumento de la “microvessel density”).

5.2 Caso clínico nº 2

Una paciente de 43 años de edad fue remitida a nuestra unidad por presentar una tumoración en la unión de cuadrantes superiores de mama derecha. El examen minucioso de la mamografía y la práctica de ecografía mamaria nos señaló la presencia de dos tumores, uno de 25 mm. y el otro situado muy próximo y por detrás del anterior, de 17 mm., ambos localizados en la unión de cuadrantes externos de la mama derecha. Se procedió mediante core-biopsia (biopsia dirigida), de ambos nódulos siendo el resultado de carcinoma mucinoso con el mismo patrón histológico en ambas biopsias; grado histológico I, diferenciación tubular 3, pleomorfismo nuclear 1, mitosis 1, sin signos de invasión linfovascular, y ausencia de carcinoma ductal in situ y de microcalcificaciones. Los receptores de estrógeno fueron altamente positivos (RE +++, Score RE: 270, 90% núcleos positivos) así como los receptores para progesterona (RP +++, Score RP: 240, 80% de núcleos positivos), y el c-erbB-2 negativo. Estadio pT2 N1b.

Tal como es habitual se procedió, siguiendo el protocolo, a un estudio de extensión consistente en gammagrafía ósea y ecografía abdominal además de la analítica (marcadores

negativos), y radiografía de tórax que resultaron normales. Al mismo tiempo se practicó una revisión ginecológica que mostró un útero y anejos normales, pero observando en la colposcopia una lesión pequeña exocervical de aspecto papilar con importante vascularización atípica. La citología exocervical fue compatible con carcinoma escamoso queratinizante por lo que practicamos una biopsia exo y endocervical la cual también nos mostró la presencia, en ambas muestras, de carcinoma escamoso con cambios coilocíticos y patrón de crecimiento papilar, estadiándolo desde el punto de vista clínico como un carcinoma cervical invasor estadio IB1. En la exploración practicada mediante resonancia magnética abdomino-pélvica, nos llama la atención una tumoración dependiente del labio cervical posterior de 3,7 x 2,2 x 3,2 cm. de aspecto sólido, homogénea y que en su crecimiento no infiltra parametrio ni oblitera canal endocervical, El endometrio es de grosor normal y tanto la vagina como ambos ovarios no muestran cambios morfológicos. No se observan adenopatías retroperitoneales de tamaño significativo y solamente pequeñas adenomegalias en las cadenas ilíacas externas, dentro de los límites de la normalidad. Los riñones y las vías excretoras urinarias son de morfología y señal normal. El estudio dinámico con contraste muestra una captación intensa y precoz de la tumoración cervical así como también lavado precoz figurando una curva bifásica de captación. Todo ello compatible con el estadiaje clínico antes mencionado de E IB1.

Se procedió seguidamente a una mastectomía derecha tipo radical modificada con linfadenectomía ipsilateral completa en los tres niveles. El examen histopatológico nos confirmó la presencia de carcinoma mucinoso multifocal de mama (en los dos tumores mencionados, grado histológico II, de 22 y 15 mm. sin signos de invasión vascular, y con la característica tumoral de presentar un 90% de componente mucinoso. Figura nº 17. Un total de dos ganglios (2 /18) correspondientes al nivel I presentaron metástasis tumoral, mientras que el resto de ganglios niveles II-III fueron histológicamente negativos.

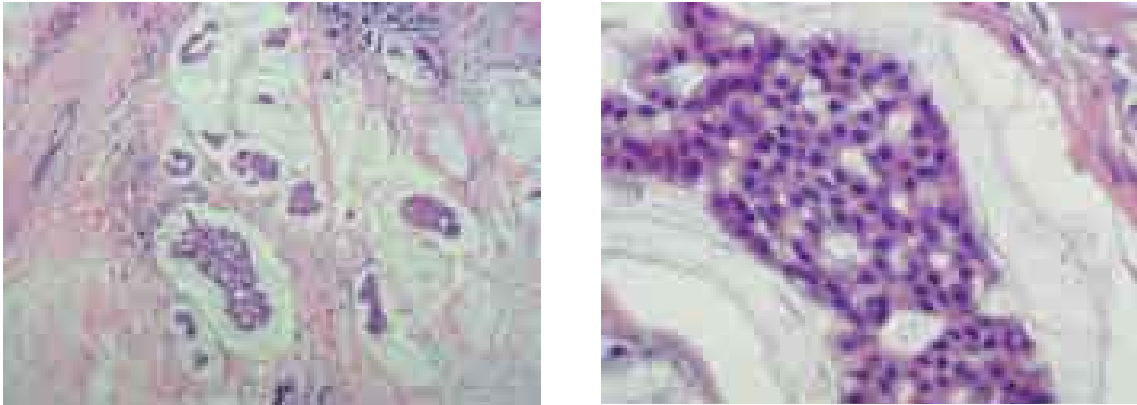


Figura n°17 Anatomía Patológica. Carcinoma mamario infiltrante tipo coloide. Obsérvense los nidos infiltrantes de adenocarcinoma sobre material mucinoso (25 x). Misma imagen a mayor aumento (160 x).

Tres semanas después se procedió al tratamiento del tumor cervical uterino practicando una histerectomía radical tipo III y linfadenectomía pélvica completa bilateral, mediante total abordaje laparoscópico. El estudio de la pieza nos confirmó la presencia de carcinoma escamoso queratinizante moderadamente diferenciado de 6 x 4 cm., situado en el canal endocervical, tipo “barrel-shaped” con márgenes libres sin presentar extensión parametrial, aunque con importante permeación de los espacios linfovascuales. El examen histológico de los ganglios ilíacos no mostró afectación tumoral (0/7 derechos y 0/12 izquierdos).

La neoplasia mamaria requirió tratamiento adyuvante con quimioterapia (F E C x 6 ciclos). Ante la presencia de un tumor cervical “bulky” y la afectación de los espacios linfovascuales, tras discusión del caso en el Comité Oncológico, se remitió la paciente a la Unidad de Radioterapia para radiación adyuvante pélvica externa, la cual se llevo a cabo con una dosis total de 46,8 Gy.

La paciente siguió los controles habituales, y 15 meses después de finalizar el tratamiento, presentó dos nódulos de 3 cm. y 2 cm. en la pared abdominal anterior, al mismo tiempo que se observaba una induración del fondo de saco vaginal izquierdo. Uno

de los nódulos parietales se hallaba situado en la región umbilical justo en la cicatriz correspondiente a la incisión para la colocación del trócar laparoscópico, y el otro en la fosa ilíaca izquierda, en la cicatriz del trócar de 5 mm. Practicamos Resonancia Magnética abdomino-pélvica, mediante secuencias potenciadas en T1, T2 y FATSAT antes y después de la administración de contraste endovenoso, hallando una ureterohidronefrosis bilateral, visualizándose ambos uréteres dilatados hasta el nivel de la unión ureterovesical en donde se identifica un componente de partes blandas de aspecto fibroso, hipointenso. Al mismo tiempo se observó la presencia de dos lesiones sólidas nodulares de 3 y 2 cm. adheridas a la pared abdominal anterior que muestran un realce significativo tras la administración de contraste endovenoso, sugestivas de implantes tumorales. Figura nº 18. La punción-citología (PAAF) de la lesión umbilical mostró positividad para carcinoma escamoso.



Figura nº18 Resonancia magnética. Dos lesiones sólidas nodulares (una de 3x3 cm y otra de 2 cm) situadas en la pared abdominal anterior, sugestivas de implantes tumorales.

Tras nueva valoración del caso se procedió al tratamiento quirúrgico de estas tumoraciones, mediante laparotomía y exéresis amplia de los nódulos parietales (figura nº 19), y al mismo tiempo linfadenectomía paraaórtica, y exéresis de un nódulo de fondo vaginal, citologías de lavado pélvico y colocación de malla de Marlex para los defectos de la fascia aponeurotica. Las citologías de Douglas presentaron positividad para células neoplásicas, y el estudio histológico confirmó la presencia de metástasis de carcinoma escamoso queratinizante escasamente diferenciado que afectaba todas las capas de la pared abdominal de ambos nódulos tumorales (figura nº 20), así como de la lesión situada en el fondo vaginal, y en cambio la negatividad (0/13) para los ganglios paraaórticos. El estudio mediante inmunohistoquímica (CD 31) mostró fuerte positividad: incremento de la densidad microvascular y presencia de importantes fenómenos de neoangiogénesis peritumoral. Figura nº 21.

A la paciente se le completó el tratamiento mediante la administración de braquiterapia con dosis total de 35 Gy, y posterior quimioterapia basada en cisplatino, hallándose en este momento viva y libre de enfermedad.



Figura nº19 Port site metástasis. Imagen macroscópica del tumor umbilical.

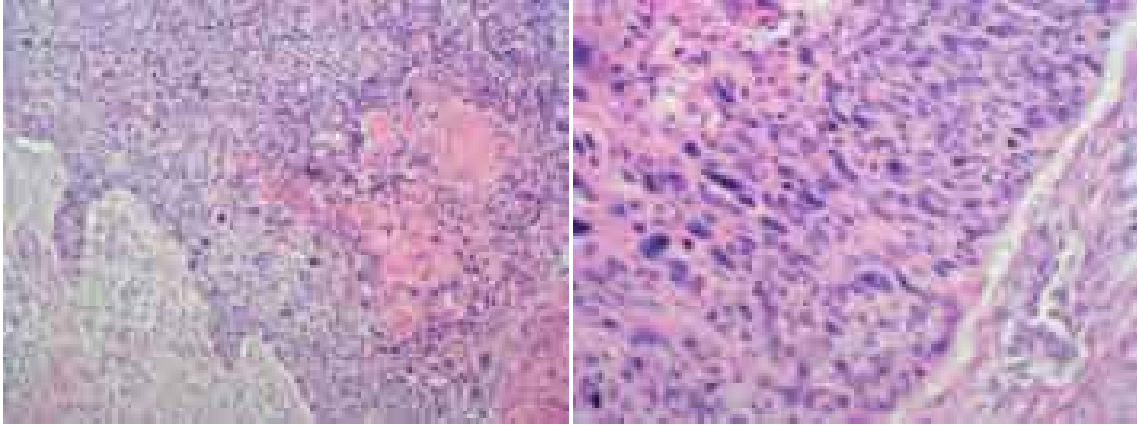


Figura n°20 Anatomía Patológica del port site umbilical. Carcinoma escamoso queratinizante, con formación de nidos córneos (25 x). Misma imagen a mayor aumento (100 x).

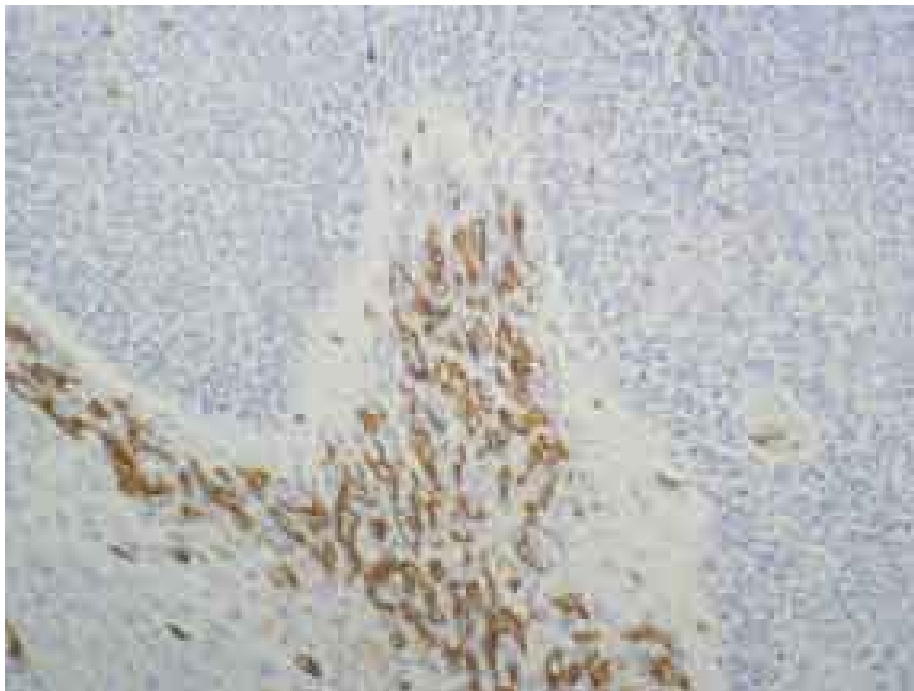


Figura n°21 Anatomía Patológica (inmunohistoquímica con CD-31). Neoangiogénesis en la periferia del port site metástasis

6. PORT SITE METASTASIS

6.1. Introducción:

Las metástasis que se producen en los orificios de colocación de los trocares al practicar las laparoscopias son muy poco frecuentes. El tratamiento quirúrgico radical del carcinoma de cérvix se ha efectuado habitualmente mediante laparotomía, pero en la última década son muchos los centros en los que esta cirugía ginecológica se lleva a cabo por procedimientos laparoscópicos (89). De forma similar ocurre en el cáncer de endometrio y en los estadios iniciales del cáncer de ovario. En estos procedimientos alternativos de laparoscopia, en los que se pretende idéntica radicalidad, y que lógicamente incluyen la linfadenectomía completa, reducen de forma considerable la morbilidad, la estancia hospitalaria y permiten el más pronto restablecimiento de la paciente, lo cual también favorece disminuir el periodo que la paciente requiere para reanudar sus actividades habituales. Sin embargo el análisis del impacto de la histerectomía radical y linfadenectomía laparoscópicas en el periodo libre de enfermedad y en la supervivencia global de las pacientes será posible cuando contemplemos los seguimientos de las enfermas a más largo plazo.

Mientras estas nuevas terapias se consolidan aparecen publicaciones que nos informan de la presencia de “port site metastasis”, ligados tanto al tratamiento de cánceres digestivos como de los ginecológicos. Son recurrencias de tipo tardío, que no ocurren fácilmente en los procedimientos laparotómicos, y que precisan de ensayos randomizados para validar los riesgos a largo plazo de estos tratamientos laparoscópicos.

En los protocolos de tratamiento de los tumores “bulky” del cáncer cervical – estadios Ib2- o en el de los estadios más avanzados – estadios II-IV-, el tratamiento quirúrgico inicial ha sido desplazado por la quimio-radioterapia concomitante a raíz

de los trabajos publicados en 1999 (48-50) en los cuales se demostraba un importante incremento de la supervivencia en estos grupos de pacientes. La duda se plantea cuando el radioterapeuta se pregunta hasta que nivel de la cavidad abdominal debe extender el campo de radiación: solo a nivel pélvico o también al paraaórtico. La linfadenectomía paraaórtica retroperitoneal nos permite alcanzar todos los ganglios aorto-cavos, sin apenas morbilidad, y posibilitando una pronta aplicación de los tratamientos radioterápicos al no existir heridas laparotómicas (26-27). Lógicamente en estos casos y al mismo tiempo una laparoscopia transperitoneal a nivel umbilical debe practicarse para descartar la presencia de carcinomatosis peritoneal.

Nosotros tratamos de explicar, a través de los dos casos clínicos previamente descritos, el desarrollo de dos casos de port site metástasis a nivel umbilical. Uno de ellos tras la práctica de cirugía radical por procedimiento laparoscópico y el otro un tiempo después de efectuar linfadenectomía aórtica retroperitoneal, este último por primera vez descrito en la literatura (104), y de difícil explicación, habida en cuenta la distancia entre los orificios abdominales de la vía laparoscópica habitual y de la retroperitoneal. La rareza del segundo caso es lo que nos permitirá el estudio de un nuevo mecanismo de presentación de metástasis en los orificios de los trocares, así como del estudio de los demás mecanismos, el cual nos hará posible en un futuro próximo la aplicación de nuevas terapias.

6.2. Frecuencia y definición:

Para evaluar la incidencia de port site metastasis es preciso primero clarificar los criterios usados para definir esta recurrencia. Reymond et al. (105) sugieren la siguiente definición: “Recurrencias tumorales precoces que se desarrollan localmente en la pared abdominal, en el interior del tejido cicatricial de uno o más lugares de implantación de los trocares o de una incisión de la pared después de una laparoscopia, y estas no pueden asociarse con carcinomatosis peritoneal”.

La incidencia de las metástasis en los orificios de los trocares laparoscópicos todavía no está bien definida. La mayoría de los casos no son publicados, en primer lugar porque después del procedimiento laparoscópico, el cirujano no efectuó el seguimiento de la paciente, las cuales son tratadas por el oncólogo médico, y en segundo lugar porque una amplia proporción de port site metastasis son detectadas al mismo tiempo de presentarse enfermedad metastásica en otros lugares de la cavidad abdominal, dándoles a estas recidivas muy escasa importancia dentro del contexto total del pronóstico de la paciente, puesto que en la mayoría de los casos esta recurrencia no ofrecen impacto sobre este pronóstico. De todos modos la incidencia del port site metástasis en los procesos neoplásicos ginecológicos tratados mediante laparoscopia no es alto: posiblemente oscila entre el 1-2% (106) de todos ellos, aunque no debemos subestimar el potencial de aparición de esta indeseable complicación.

Prácticamente no existen publicados estudios comparativos sobre el desarrollo de tumores después de cirugía convencional y de procedimientos laparoscópicos en el tratamiento de neoplasias ginecológicas. Los datos recogidos se refieren a estudios no randomizados, a series prospectivas reducidas, o a series randomizadas, pero con un seguimiento medio de dos años, los cuales sugieren una incidencia de recidiva después de efectuar procedimientos laparoscópicos de entre 0 y 1,2% (107-110). Estos resultados serían, actualmente, fácilmente comparables a la incidencia de metástasis de implantación observadas después de la cirugía abierta convencional.

Childers et al. (111) publican una serie de 105 procedimientos laparoscópicos en pacientes con probadas neoplasias y encuentran 1,1% de aparición de port site metástasis por procedimiento (0,3% por lugar de punción) . Esta proporción no es muy diferente de la que se presenta tras las paracentesis con trocar o con aguja fina para aspiración de líquido ascítico en los casos de neoplasias con presencia de ascitis positiva y que podrían representar una incidencia del uno por mil casos (112).

En un estudio comparativo publicado por Obermair et al. (113) sobre 226 pacientes tratadas por cáncer de endometrio mediante abordaje laparoscópico frente a 284 pacientes tratadas por laparotomía, no encuentran ningún caso de aparición de port site metástasis. En cambio, Sanjuán et al. (114) presentan dos casos de recurrencia en los orificios de los trocares en dos pacientes tratadas por cáncer de endometrio en estadio IIb, a los 39 y 49 meses después de efectuada la cirugía inicial, consistente en la práctica de histerectomía vaginal y linfadenectomía pélvica asistida por laparoscopia.

6.3 Port site metástasis en el cáncer ovárico y tubárico:

Después de una revisión de 18 estudios publicados en la literatura inglesa (115-131,111), hemos identificado alrededor de 40 pacientes con diagnóstico primario de cáncer de ovario: siete de ellas presentaban tumores “borderline” y el resto (33 pacientes) carcinoma invasor en el momento de la cirugía inicial. La mayoría de ellas (82%) en estadios avanzados de la enfermedad, valorados durante el abordaje quirúrgico, en el cual se evidenció carcinomatosis en 29 pacientes y presenta de ascitis en 24 (71%). Un 75% de procedimientos laparoscópicos se realizaron con fines diagnósticos.

El tiempo medio de aparición de metástasis en los orificios de los trocares fue de 17 días (rango: 4-730), y el estudio de su diferente localización, solamente publicada para un total de 21 pacientes. En 15 (71%) de las 21 pacientes citadas se observó recurrencia aislada en el lugar usado para insertar trocares a través de los cuales se obtuvieron biopsias o manipulación o extracción del tumor. Sin embargo, resulta interesante que en tres de estas pacientes la recidiva apareció en el lugar de inserción del laparoscopio sin relación con la manipulación o la exéresis de tejido neoplásico. En 11 pacientes el orificio de inserción del trocar fue suturado al finalizar la laparoscopia, y en solo cuatro se completó con el cierre de la fascia. El tumor recurrente fue extirpado en 14 (88%) de 16 pacientes. La supervivencia después de la laparoscopia se objetivó solo en 11 pacientes con un

seguimiento medio de 10 meses después del diagnóstico de port-site metástasis: ocho de estas pacientes estaban vivas y sin evidencia de enfermedad, dos murieron de afectación tumoral, y otra por distintas causas.

Solo hemos encontrado un caso publicado de port-site metástasis laparoscópico en una paciente con carcinoma primario de trompa (132), a la que se le practicó cirugía por procedimiento laparoscópico para evaluación de una masa anexial y que se completó por histerectomía vaginal con salpingooforectomía bilateral también asistida por laparoscopia. Durante el procedimiento laparoscópico se produjo una ruptura del tumor anexial, cuyo contenido se desparramó por la cavidad pélvica. El resultado del informe anatómopatológico fue de carcinoma seroso papilar tubárico estadio Ic. La recurrencia port-site se evidenció siete meses después de la laparoscopia de forma única en el orificio del trocar, siendo esta extirpada y la paciente tratada post-operatoriamente mediante quimioterapia: 14 meses después de la recurrencia la paciente se encontraba bien y sin evidencia de enfermedad.

En el tratamiento o diagnóstico laparoscópico del cáncer de ovario avanzado es importante constatar la importancia del intervalo entre la cirugía laparoscópica y el inicio de la quimioterapia o de la práctica de la “debulking surgery”. Van Dam et al. (128) encuentran que las pacientes con metástasis en la zona de implantación de los trocares habían presentado mayor intervalo entre la laparoscopia y el comienzo de la quimioterapia basada en regímenes de platino o de la cirugía citoreductora, comparándolo con las que no presentaron recurrencia abdominal (mediana de 6 versus 17 días, con una $P < 0.01$). En los casos en los que se practica posterior cirugía citoreductora laparotómica resulta imperativo la exéresis completa de todas las cicatrices abdominales en donde fueron colocados los trocares laparoscópicos.

6.4. Port site metastasis en pacientes con cáncer endometrial.

Nuestra revisión de la literatura ha identificado seis casos (133-135,114). La edad media de estas pacientes fue de 64,5 años (rango: 55-78). A las seis pacientes se les practicó histerectomía vaginal asistida por laparoscopia conjuntamente con linfadenectomía pélvica laparoscópica. El tiempo medio de aparición del port-site metástasis en estas pacientes afectas de cáncer endometrial fue de 25,5 meses (rango: 6-48). La mitad de las recurrencias se produjeron en el orificio del trócar a través del cual se manipuló el tejido tumoral. En cuatro de las seis pacientes se ha publicado la posterior resección del port-site metástasis y con un seguimiento medio de nueve meses, se encontró que dos de las pacientes fallecieron de la enfermedad.

En la publicación previamente citada de Obermaier et al. (113) en la que se comparan dos importantes series de pacientes tratadas mediante histerectomía total vía laparoscópica versus vía laparotómica, a parte de no hallar ningún caso de port-site metástasis, no presentan diferencias estadísticamente significativas en cuanto a recurrencias o supervivencia global, con un seguimiento medio de 29,4 meses.

6.5. Port site metástasis en pacientes con cáncer vaginal.

Nuestra revisión solamente ha identificado un caso de port-site metástasis en una mujer de 55 años a la que se le practicó una linfadenectomía pélvica laparoscópica por un carcinoma del tercio superior vaginal (130), no existiendo evidencia durante el procedimiento quirúrgico de carcinomatosis o ascitis. Se observó enfermedad metastásica en los ganglios linfáticos de la fosita obturatriz, por lo que la paciente fue tratada mediante radioterapia. Veinte meses más tarde desarrolló una recidiva umbilical, al tiempo que presentaba evidente carcinomatosis peritoneal. A la paciente se le practicó resección quirúrgica del “port site metastasis” y posterior tratamiento quimioterapia adyuvante.

6.6. Port site metastasis en el cáncer cervical.

Metástasis en los orificios de los trocares después del tratamiento del cáncer de cervix mediante laparoscopia han sido bien documentados en la literatura en 14 pacientes (ver referencias bibliográficas en la tabla nº XII). A la mayoría de pacientes se le practicó disección ganglionar laparoscópica únicamente, en combinación con histerectomía vaginal asistida por laparoscopia, o con histerectomía radical totalmente realizada mediante laparoscopia. El tipo histológico fue de carcinoma escamoso en 11 pacientes (78,5%) y de adenocarcinoma en el resto (21,5%), tratándose la mayoría de estadios I-II de la enfermedad. La recidiva se diagnosticó con un tiempo medio de 10,95 meses después de la laparoscopia (rango: 2-48), aunque en muchos casos la recurrencia apareció dentro de los primeros siete meses. En la mitad de las pacientes la recurrencia se presentó de forma aislada en el orificio del trocar usado para extraer los ganglios linfáticos o para la práctica de biopsias. En cinco pacientes la recidiva tumoral se presentó en el orificio del trocar usado para situar el laparoscopio, no habiendo sido en ningún momento utilizado para la extracción del espécimen tumoral. En el resto de pacientes la recurrencia apareció en el orificio utilizado para ambos: el usado para situar el laparoscopio y el correspondiente a la extracción de los ganglios tumorales. En la mayoría de pacientes, una vez diagnosticado el “port-site metástasis”, este fue extirpado quirúrgicamente, para después completar el tratamiento mediante radioterapia, quimio-radioterapia concomitante o con sólo quimioterapia. Con un seguimiento medio de 12 meses (rango: 3-53) un 67% de las pacientes murieron de la enfermedad.

La aparición de metástasis en los orificios de los trocares después de un procedimiento laparoscópico para el tratamiento quirúrgico del cáncer de cervix no parece tener relación con el tipo histológico tumoral. Lógicamente son más frecuentes los casos descritos en relación con el carcinoma escamoso (137-138), pero también pueden aparecer en el contexto de carcinomas adenoescamosos (139), o de adenocarcinomas

endocervicales (140). Tampoco hemos encontrado relación entre la aparición de los port-site metástasis y el estado ganglionar. Kohlberger et al. (142) publican un caso de aparición de recidiva en el orificio del trocar 19 meses después de una laparoscopia diagnóstica por algias pélvicas en una paciente afecta de carcinoma escamoso estadio IB1 con ganglios ilíacos negativos. La publicación de Lavie et al. (140) describe la aparición de port-site metástasis después de tratar una paciente que presentaba adenocarcinoma cervical estadio IA1 mediante histerectomía vaginal asistida por laparoscopia con disección ganglionar pélvica bilateral y con ganglios linfáticos negativos, siendo su aparición diagnosticada nueve meses después de la cirugía.

Las metástasis cutáneas después de carcinoma cervical uterino son poco frecuentes pero han sido publicados casi 40 casos en la literatura (146-147). Contaminaciones tumorales de las heridas han sido descritas, así como la aparición de tumores en el lugar de la episiotomía después de un parto vaginal (148-149), o en los orificios de drenajes retroperitoneales (150), pero en muy pocas ocasiones se han publicado casos de aparición de recidivas en la cicatriz de la laparotomía usada para la histerectomía radical (151).

No incluimos en esta serie el caso publicado por Cohn et al. (152) los cuales describen a una paciente afecta de adenocarcinoma cervical estadio IIB a la que se le practica estadiaje ganglionar laparoscópico con el resultado de dos ganglios histológicamente positivos, se le instaura tratamiento radioterápico, y en la laparotomía posterior presenta metástasis diafragmáticas, no en el orificio del trocar laparoscópico, por lo que no consideramos sea un caso de port-site metástasis.

AUTOR	AÑO	EDAD	ESTA.	ANAT. PAT.	TRAT. QUIR.	RECIDIVA
Patsner (136)	1992	42	IB1	Escamoso	L.D.	5 m.
Nauman (137)	1997	41	IIIB	Escamoso	LA	5 m.
Wang (138)	1997	47	IB1	Escamoso	HVL+LP	2 m.
Kadar (133)	1997	41	IB2	Escamoso	LP+LA	-
Kadar (133)	1997	64	IIIB	Escamoso	LA	-
Lane (139)	1999	58	IB1	Adenoscam.	HRL	10 m.
Lavie (140)	1999	48	IA1	Adenoca.	HVL	9 m.
Carvahlo (141)	1999	33	IB2	Escamoso	LP	1,5 m
Kohlberger (142)	2000	31	IB1	Escamoso	LD	19 m
Lecuru (131)	2000	71	IB1	Escamoso	LP	48 m
Gregor (143)	2001	31	IIB	Escamoso	LP	3 m.
Tjalma (144)	2001	74	IIIB	Escamoso	LA	15 m.
Agostini (145)	2001	46	IIB	Escamoso	LA	7 m.
M.Palones (104)	2005	59	IIIB	Adenoca.	LA	7 m

Tabla nº XII. Casos de recurrencia en los orificios de los trocares descritos en la literatura, tras el abordaje laparoscópico del cáncer cervical.

LD (laparoscopia diagnostica), HVL (Histerectomía vaginal asistida por laparoscopia), HRL (histerectomía radical laparoscópica), LP (linfadenectomía pélvica laparoscópica), LA (linfadenectomía aórtica laparoscópica).

Los dos casos clínicos descritos previamente en el capítulo anterior se pueden incluir en este contexto de “port site metastasis” asociado al tratamiento del carcinoma cervical uterino, tratado mediante procedimientos laparoscópicos. El primero de ellos debido a la presencia de un adenocarcinoma endocervical tipo “bulky” con afectación parametrial y por tanto tributario de quimio-radioterapia concomitante, a cuya paciente la linfadenectomía retroperitoneal laparoscópica le descubrió la presencia de afectación ganglionar paraaórtica. El segundo caso corresponde a otra paciente, intervenida dos semanas antes de un carcinoma ductal mamario, pero que la existencia al mismo tiempo de un carcinoma escamoso de cervix uterino precisó la práctica de cirugía radical totalmente realizada mediante abordaje laparoscópico.

6.7. “Sister Mary Joseph’s nodule”

Metástasis umbilicales de una neoplasia, también denominadas nódulo de sister Mary Joseph, no han sido frecuentemente descritas en la literatura inglesa, y suelen ser habitualmente consideradas como un signo de mal pronóstico para la paciente. En estos casos los tumores primarios generalmente se originan a partir de cánceres gastrointestinales o genitourinarios, y acostumbran a ser la primera manifestación de un tumor primario de origen desconocido.

Estas metástasis cutáneas localizadas en la zona umbilical se denominan así porque en 1949 Sir Hamilton Bailey usó este nombre en su libro “Physical Signs in Clinical Surgery” para describir estos tumores umbilicales en honor a la sister Mary Joseph, la enfermera jefe y ayudante de cirugía del Dr. William Mayo, del St. Mary’s Hospital en Rochester, la cual fue la primera en advertir los lazos entre los nódulos umbilicales y la neoplasia intraabdominal.

Son poco frecuentes y representan solo el 10% de todos los tumores secundarios que se extienden a la piel (153). Estudios epidemiológicos muestran que esta patología

prevalece en mujeres (154). Estos nódulos son secundarios a un tumor primario que puede situarse en el tracto gastrointestinal (35-65%), del genitourinario (12-35%), y en un 3-6% de cánceres hematológicos, pulmonares o mamarios. En un 15-30% de pacientes el origen del tumor primario permanece desconocido.

El nódulo de sister Mary Joseph se presenta generalmente como una tumoración dolorosa situada en la pared abdominal anterior, de márgenes irregulares y consistencia dura. Su superficie puede estar ulcerada o necrótica con presencia de fenómenos hemorrágicos, secreción serosa, mucinosa o incluso purulenta. Con mayor frecuencia su tamaño oscila de 0,5 a 2,5 cm., aunque puede alcanzar tamaños cercanos a los 10 cm. Puede diagnosticarse mediante la exploración física o mediante ecografía la cual detecta la presencia de un tumor umbilical de aspecto sólido; todo ello se puede corroborar con la técnicas de scanner o resonancia magnética.

El mecanismo por el cual un tumor primario metastatiza la zona umbilical permanece incierto, aunque resulta razonable que la extensión directa de un tumor a través del peritoneo sea el camino preferido por los tumores gastrointestinales, aunque estos también puedan diseminar hacia el hígado a través del sistema portal, y posteriormente por medio de los vasos linfáticos y/o venosos canalizar hasta la pared abdominal, preferentemente en la región umbilical (155).

Su presencia es un signo de mal pronóstico: indica enfermedad neoplasia avanzada, siendo a veces imposible el tratamiento quirúrgico. La laparoscopia juega en estos casos un importante papel siendo un arma útil para detectar el origen tumoral, permite practicar biopsias y confirmar la presencia de carcinomatosis peritoneal. La supervivencia sin tratamiento oscila entre 2 y 11 meses (156), pero si se tratan, estos pacientes puede alcanzar hasta los 21 meses; en los casos en que la lesión aparece después del tratamiento del tumor primario la supervivencia no excede de la mitad (7,6 meses). Todas estas masas umbilicales deben ser siempre biopsiadas, y tratadas si es posible, mediante un agresivo

abordaje quirúrgico, el cual requiere además quimioterapia adyuvante con objeto de ofrecer a la paciente la mejor probabilidad de supervivencia.

Debemos diferenciar estos nódulos de la sister Mary Joseph de las recurrencias que puedan presentarse en la cicatriz de laparotomía, por ejemplo las que aparecen después de tratar cánceres endometriales (157-159).

Desde el punto de vista anátomo-patológico, en muchos casos son precisos los análisis mediante inmunohistoquímica para determinar el vínculo entre el tumor primario y el nódulo umbilical. Por ejemplo, las metástasis umbilicales que se presentan como primer signo de diseminación del cáncer ovárico precisan de estudios de citoqueratinas 7, Ca 125, E-cadherin, alfa, beta y gamma catenin, etc. para confirmar o descartar su origen ovárico (160).

7. FACTORES ETIOLOGICOS DEL PORT SITE METASTASIS.

7.1. Generalidades.

Numerosos factores etiológicos han sido propuestos para poder explicar la aparición y el desarrollo de los port-site metástasis laparoscópicos. Es interesante comprender que no existen conclusiones evidentes en toda la literatura que respondan a la cuestión de cuando se desarrolla una recurrencia en el orificio de los trocares a causa de la existencia de un tumor de naturaleza agresiva o por la existencia de factores de riesgo inequívocamente asociados a la cirugía laparoscópica.

Para el estudio de estos factores etiológicos, distinguiremos varios apartados:

1. Diseminación hematológica.
2. Implantación directa a pared.
3. Pneumoperitoneo.
4. “The Chimney effect”.
5. Inmunoreacción local.
6. Técnica quirúrgica .
7. Neoangiogénesis.

7.2 Diseminación hematológica.

Se han detectado células neoplásicas en el sistema circulatorio de pacientes afectas de diversos cánceres e incluso se ha llegado a proponer que las exploraciones quirúrgicas incrementan la diseminación de dichas células. Sin embargo Murthy et al. (161) afirman que las metástasis de la pared abdominal son raras aún cuando las células tumorales sean inyectadas por vía endovenosa, o incluso en el caso que pudieran originarse en los lugares de trauma quirúrgico. Podría incluso pensarse que en el caso de procedimientos laparoscópicos la presión positiva en la cavidad peritoneal durante el pneumoperitoneo

junto con la posible diseminación de células neoplásicas dentro de la cavidad peritoneal y de las superficies peritoneales traumatizadas, haría posible que micro-émbolos tumorales se introdujeran en el torrente circulatorio, alcanzando los vasos venosos a través de los linfáticos (162-163).

Sin embargo en número actual de casos publicados de implantación tumoral en las heridas laparoscópicas no es tan alto como lo que este concepto sugiere. Con todo, podemos afirmar después del trabajo de Gutman et al. que únicamente sobreviven el 1% de células que alcanza la circulación general, y de éstas solamente el 0,1% serán capaces de inducir metástasis (164). La revisión de otras publicaciones sobre estudios en humanos y en animales no evidencian que la diseminación tumoral hematógena represente un papel importante en la etiología de estas metástasis situadas en los orificios de los trócares.

7.3 Implantación directa a pared.

Existen múltiples posibilidades que permitirían explicar como las células neoplásicas diseminadas durante una operación pueden alcanzar la herida quirúrgica. Así, los instrumentos usados contaminados por células tumorales pueden a su vez contaminar los orificios de los trocares, o ser estos afectados durante la extracción del espécimen quirúrgico. Hewett et al. (165) muestran en su publicación que tras la inoculación de células de cáncer de colon, en experimentación animal, un 20% de los trocares y un 40% del instrumental se encuentran recubiertos por dichas células. En un interesante experimento realizado por Reymond et al. (105) evalúan la presencia, viabilidad y significado biológico de las células en los instrumentos, trocares, aspiradores y lavados peritoneales durante doce laparoscopias efectuadas como estadiaje en cáncer pancreático. Los investigadores detectan células tumorales en 6 de 12 lavados peritoneales, en 4 de 12 lavados de trocares, pero no en las doce muestras de CO₂. Otros autores encuentran mayor posibilidad de contaminación tumoral de la herida laparoscópica cuando existen

mayor cambio de los instrumentos o mayor manipulación de los trocares a través de sus orificios abdominales. Sin embargo, aunque parece lógico que por sí solo el concepto de la contaminación directa de la herida abdominal explicase la causa de aparición de port-site metástasis, múltiples publicaciones argumentan en contra de esta hipótesis. Algunos investigadores han publicado la aparición de estas recurrencias en los orificios de los trocares, los cuales no han sido usados para la extracción del espécimen tumoral (166-167). En otro caso la laparoscopia fue usada únicamente como diagnóstico de resecabilidad de un tumor pancreático (168), sin manipulación tumoral, desarrollando posteriormente una tumoración en el orificio del trocar laparoscópico. En otro caso se descubrió la presencia de carcinoma pancreático metastásico en el orificio de inserción del trocar a través del cual se había previamente practicado una colecistectomía por vía laparoscópica en la paciente con un posiblemente oculto carcinoma de páncreas.

El estudio de estos casos y el hecho de que hoy en día todos los especímenes tumorales se extraigan en adecuadas bolsas de plástico, sin la posibilidad de contaminación celular accidental de la herida abdominal, indican que la contaminación directa de la pared abdominal no deba ser considerada como la única y definitiva causa de aparición de port-site metástasis.

7.4 Pneumoperitoneo.

En general el gas ideal para la insuflación debería ser altamente soluble en el plasma, sin coloración, relativamente económico y de fácil aplicación para la mayoría de pacientes y procedimientos. Lógicamente debe ser también químicamente estable, fisiológicamente inerte y sin peligro de explosión. El oxígeno presenta un cierto potencial de producir embolismos venosos a causa de su poca solubilidad en la sangre. El óxido nitroso, usado durante un tiempo por muchos ginecólogos, ha sido presentado en múltiples publicaciones como causa de fatales explosiones intraperitoneales. El argón puede presentar indeseables

efectos hemodinámicos, especialmente en el flujo sanguíneo-hepático. El helio, similar al aire y al nitrógeno, también posee el peligro de secuelas hemodinámicas o del equilibrio ácido-base y se disuelve lentamente en la sangre acarreando riesgos potenciales de letales embolismos venosos.

El gas más comúnmente usado para la insuflación durante la cirugía laparoscópica es el dióxido carbónico (CO₂). Es incoloro, inodoro, no inflamable, aunque puede causar hipercapnia y acidemia, particularmente en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Presenta poca posibilidad de causar embolismos gaseosos puesto que la hemoglobina transportada por los hematíes tiene mayor afinidad por el CO₂ que por otros gases laparoscópicos.

Extensa literatura sugiere que el gas CO₂ es uno de los principales factores etiológicos que inducen la aparición de port-site metástasis. Gupta et al. (169) realizan un experimento animal en el cual unas ratas fueron randomizadas para laparoscopia en cuatro grupos usando cuatro distintos gases: CO₂, helio, argón y nitrógeno. Encuentran que las ratas en las que se utiliza insuflación con gas helio tienen menor número de port-site metástasis y menor diseminación tumoral intraperitoneal, mientras que el argón y el nitrógeno se asociaron con un aumento de las recurrencias. En otro estudio Neuhaus et al. (170) mostraron que el número de áreas peritoneales con implantes tumorales era menor después de laparoscopia realizada con helio, en comparación con las realizadas con CO₂ y óxido nitroso.

En otro ensayo diseñado para determinar el efecto del pneumoperitoneo en la implantación tumoral en los orificios de los trocares laparoscópicos, Jones et al. (171) inyectaron células de cáncer de colon humano en la cavidad abdominal de hamsters, hallando que el pneumoperitoneo induce la implantación en el orificio del trócar en el 75% de casos comparado con el 26% en el grupo control (P<0.0001). Esto fue posteriormente confirmado por otro estudio de Bouvy et al. (172), el cual comparaba la “gas-less”

laparoscopia con la de pneumoperitoneo CO₂, resultando en este último un incremento del crecimiento tumoral y del número de metástasis en la pared abdominal.

Otros autores han argumentado que el riesgo de aparición de port-site metástasis no está ligado únicamente al pneumoperitoneo con CO₂ sino además con la presión intraperitoneal usada durante el procedimiento laparoscópico. Jacobi y colaboradores (173) analizan el crecimiento tumoral de células de adenocarcinoma colónico en ratas con diferentes presiones abdominales hallando que altas presiones de CO₂ estimulan el crecimiento tumoral intrabdominal, resultados muy similares a las del trabajo de Gutt et al. (174).

El concepto de que la “gas-less” laparoscopia podría reducir la incidencia de recurrencias en los orificios de los trocares no ha podido ser demostrada en múltiples estudios. Iwanaka et al. (175) no encuentran diferencias en el porcentaje de recidivas entre la gasless y la laparoscopia convencional, así como tampoco en el trabajo publicado por Lecuru et al. (176), los cuales comparan el crecimiento tumoral después de la laparoscopia CO₂, “gas-less” laparoscopia, laparotomía media, y la simple inducción anestésica como control. En otro estudio, Agostini et al. (177) evalúan el efecto del pneumoperitoneo CO₂ en la diseminación tumoral y la aparición de port-site metástasis en un modelo de cáncer ovárico sin hallar que la progresión tumoral esté influenciada por la presión del gas o la duración del procedimiento, siendo incluso el número de aparición de recurrencias en la pared abdominal mayor en el grupo de “gas-less” laparoscopia. Otro factor adicional en contra de que la “gas-less” laparoscopia pueda prevenir la aparición de port-site metástasis es el número de casos publicados después de toracoscopias, en las cuales nunca se practica insuflación ninguna. Así pues el entusiasmo por la “gas-less” laparoscopia ha ido decreciendo porque además esta cirugía lleva consigo la mayor exposición del campo operatorio y en muchas ocasiones resulta técnicamente mucho más difícil.

Otro posible efecto adverso del pneumoperitoneo es la lesión que pueda producirse en el epitelio de la superficie peritoneal. El incremento de la presión intraperitoneal disminuye el flujo sanguíneo tanto en el peritoneo parietal como en el visceral, lo cual haría a este peritoneo más susceptible al crecimiento tumoral (178). Otra razón adicional para incrementar la adherencia de las células tumorales al peritoneo es la exposición del tumor a las matrix proteínas extracelulares incluyendo la laminin, fibronectin y vitronectin (147), lo cual provoca que las células tumorales queden atrapadas en el gel de fibrina.

Finalmente resulta interesante comentar el experimento descrito por Hirabayashi et al. (179) en 15 ratas inmunodeprimidas a las que se les inyectó intraperitonealmente células de carcinoma gástrico humano (MKN 45), sometiéndolas a pneumoperitoneo CO₂ a 4-6 mm. Hg durante 20 minutos. Posteriormente al tercer y al octavo días, una vez sacrificadas, se les extirparon los orificios abdominales de los trocares para ser examinados desde el punto de vista anatómico-patológico mediante microscopio óptico y electrónico. En las del grupo del tercer día, los defectos del tejido peritoneal y capa muscular fueron remplazados por tejido de granulación, observando en ellos la presencia de múltiples células neoplásicas. En las sacrificadas al octavo día, un pequeño nódulo era visible en el lugar de implantación de los trocares, completamente recubierto por células mesoteliales y por numerosas células tumorales. Concluyen que las células cancerosas libres intraperitonealmente pueden alcanzar inmediatamente las heridas de la pared abdominal en las cuales previamente se habían insertado los trocares después de la insuflación CO₂, estando fuertemente asociadas al desarrollo de port-site metástasis.

7.5 “The chimney effect”

El “chimney effect” se refiere a la posibilidad de incrementar el número de células tumorales en los orificios de los trocares causado por la fuga del gas entre ellos y la herida abdominal, o cuando cirujanos inexpertos retiran el trocar antes de vaciar el

pneumoperitoneo. El aumento de presión de una cavidad abdominal completamente cerrada permite turbulencias (remolinos) del gas durante los procedimientos laparoscópicos prolongados, lo cual favorecería la embolización de células descamadas del tumor hacia los orificios de fijación de los trocares.

La aerosolización de las células tumorales se puede habitualmente identificar recogiendo del orificio de los trocares mediante un baño salino, puesto que este mecanismo sugiere que las células tumorales son preferentemente transportadas a ellos, a causa de microfugas alrededor de los trocares. Allardyce et al. (180) fue capaz de filtrar células tumorales desde el gas de insuflación que escapaba de los orificios de inserción de los trocares. Mathew et al. (181) concluye que la insuflación CO₂ causa diseminación tumoral. Sin embargo este fenómeno no ha sido comprobado por otros autores como Whelan et al. (182) el cual fue incapaz de demostrar aerosolización de células tumorales viables, incluso con presiones de 30 mm.. Y también por Sellers et al. (183) los cuales también argumentan que este fenómeno de diseminación tumoral no es un mecanismo de port-site metástasis. Los investigadores Ikramuddin et al. (184) demuestran que las células tumorales se aerosolizan, pero solamente durante laparoscopias en las cuales existe la presencia de carcinomatosis.

7.6. Inmunoreacción local

El peritoneo está protegido principalmente por un sistema innato de defensa que consiste en varios factores, de entre ellos los mecanismos producidos por los neutrófilos, macrófagos, linfocitos timo-dependientes y productores de anticuerpos. Múltiples estudios en humanos y en animales han señalado que la inmunidad celular y tumoral se proyecta mejor en la cavidad abdominal con procedimientos laparoscópicos poco invasivos que con los laparotómicos (185). Todo ello sugeriría que un fallo en la activación del sistema inmune pueda predisponer a la aparición de port-site metástasis. A este respecto, en un

experimento, Neuhaus et al. (186) evalúan los efectos de la inmunoreacción en 17 ratas la cuales reciben cyclosporina sistémica (inmuno-supresor), endotoxina intraperitoneal (inmuno-potenciador), o no tratamiento (controles), siendo expuestas a laparoscopia con la introducción de células de adenocarcinoma en la cavidad peritoneal. Los resultados muestran que el crecimiento tumoral ($P < 0.008$) y la presencia de port-site metástasis ($P < 0.0001$) fueron estadísticamente menos comunes después de la administración de endotoxinas intraperitoneales.

Las citokinas son esenciales mediadores en la activación de los linfocitos que pueden jugar un papel en las “killer cells”. Cho et al. (187) encuentran que los niveles de interleukin-6 en pacientes a los que se le practica colecistectomía laparoscópica son un 60% inferiores comparados con los sometidos a laparotomía. Además la insuflación con CO₂ compromete la actividad de los macrófagos intraperitoneales y disminuye la respuesta inmunológica. A este respecto Jacobi et al. (188) muestran que la laparoscopia con CO₂ reduce significativamente la producción del factor-alfa de necrosis tumoral plasmático e incrementa los niveles de interleukin-10, confirmando que el pneumoperitoneo CO₂ ejerce influencia no sólo en el peritoneo local sino también sistémicamente. Otros estudios señalan que la laparoscopia con CO₂ disminuye los niveles de pH subcutáneo (189), y sugieren que a causa del bajo pH se disminuyen los mecanismos locales de defensa, pero permanece sin resolver si es la exposición al CO₂ o la hipercapnia y consiguiente acidosis inducida por el CO₂ la que provoca al desarrollo peritoneal del tumor, aunque parece más probable esta última hipótesis.

Otro interesante factor que puede tener un importante papel en el desarrollo de los port-site laparoscópicos es el impacto del pneumoperitoneo en la descarga de ácido hialurónico de las células mesoteliales, el cual se cree que es un factor crucial en la inducción de la formación de adherencias entre las células tumorales y las mesoteliales. Yamaguchi et al. (190) estudian que cuando la insuflación CO₂ causa un incremento

del ácido hialurónico, evaluando su concentración en diferentes intervalos de tiempo y con diferentes gases, y hallan que sus concentraciones son más altas en el grupo del pneumoperitoneo comparadas con el grupo laparotómico. Estos trabajos concluyen que el ácido hialurónico segregado a partir de las células mesoteliales puede estar asociado con el desarrollo de port-site metástasis después de la cirugía laparoscópica.

7.7 Técnica quirúrgica.

Ha sido propuesto que el más importante factor que influye la diseminación de células tumorales, su crecimiento y la supresión inmunológica durante el tratamiento laparoscópico de los tumores malignos es el cirujano implicado en dicho procedimiento. Durante los primeros años de la cirugía laparoscópica colorectal la incidencia de port-site metástasis era muy alta, del orden del 21% (191). Estudios más recientes sitúan esta incidencia a niveles inferiores al 2% (192). Lee et al. (193) practican esplenectomía en un modelo tumoral murino y concluyen que la manipulación traumática del tumor esplénico conlleva un significativo mayor número de aparición de port-site metástasis que con las técnicas meticulosas de resección.

La repetida extracción y reintroducción de los trocares durante el procedimiento laparoscópico traumatiza de forma significativa su lugar de inserción. Tseng et al. (194) muestran que la media de afectación tumoral en los orificios de los trocares muy traumatizados fue 14 veces superior a los que no sufrieron traumatismo.

Algunos estudios han evaluado el impacto del cierre de la herida peritoneal en la incidencia de aparición de los port-site metástasis. Agostini et al. (195) en un experimento con ratas y con células de carcinoma ovárico señala que el riesgo de presentar estas recurrencias va desde el 58% cuando no se cierra el peritoneo a un 14% cuando este es suturado. El trabajo de van Dam et al. (128) también es bastante concluyente: un total de 104 pacientes (83 con cáncer primario de ovario avanzado y 21 con cáncer de

ovario recurrente) se someten a laparoscopia para biopsias tumorales y para valoración de la posible operabilidad. Se analizan la frecuencia de metástasis de implantación en la incisión de los trocares, y la recurrencia aparece en 7 (58%) de las 12 pacientes en las cuales únicamente la piel fue suturada al final del procedimiento laparoscópico, y en solo 2 (2%) de las 92 pacientes a las que se les practicó el cierre de la herida abdominal en todas sus capas (odds ratio, 63; 95% IC, 10.3-385; $P < 0.001$). En ambos grupos, el estadio clínico, tipo histológico, diferenciación tumoral, características quirúrgicas, tumor residual y tipo de tratamiento quimioterápico fueron muy similares, concluyendo que la laparoscopia con cuidadoso cierre del peritoneo, fascia y piel, seguida de adecuada quimioterapia o de adecuada cirugía citoreductora con completa escisión de los trayectos de colocación de los trocares antes de una semana, resulta un procedimiento seguro en el abordaje del cáncer de ovario diseminado.

7.8. Neoangiogénesis.

La angiogénesis es un importante factor de crecimiento y de diseminación tumoral, y es capaz de inducir la proliferación de nuevos capilares sanguíneos a partir de los vasos preexistentes, siendo completamente distinta de la vasculogénesis, la cual se caracteriza por la formación de vasos sanguíneos de “novo”, pero asociados a los angioblastos. Una variada metodología nos permite identificar estos procesos que inducen el crecimiento tumoral, tales como el factor VIII o de von Willebrand, la determinación de la “microvessel density”, la cual se puede valorar mediante el conteo de todos los microvasos e incluso de las agrupaciones de células endoteliales que se hallan en proceso de formación capilar (en campo microscópico de gran aumento), y también mediante métodos inmunohistoquímicos como el CD-34 y el CD-31, y la determinación de anticuerpos anti-VEGF, la de interleukin-8 y el thrombospondin-1, o incluso determinaciones serológicas del VEGF.

En los dos casos clínicos presentados se evidencian importantes incrementos de la densidad de los micro-capilares y una fuerte expresión del CD-31 por inmunohistoquímica, tanto si se trata de un adenocarcinoma invasor (figuras nº 22-23), como de un carcinoma escamoso queratinizante (figura nº 24). La interacción entre tumor y huésped por un lado, y por otro la hipoxia que siempre está presente en las heridas abdominales de inserción de los trocares laparoscópicos permitiría la consecuente acidosis de su tejido graso, lo cual podría promover la progresión tumoral al inducir la sobreexpresión de interleukin-8, que a su vez representa una importante molécula identificada en la regulación de los procesos de angiogénesis a través del “vascular endothelial grown factor”. La implantación de las células neoplásicas se produciría a través del defecto peritoneal del orificio de inserción del trocar, alcanzando fácilmente el tejido adiposo subyacente, viéndose incrementada su proliferación por los factores de neoformación capilar.

De acuerdo con estos hallazgos, los procesos de angiogénesis podrían representar un posible nuevo mecanismo promotor de las recurrencias en la pared abdominal posteriores a la laparoscopia, si se tienen en cuenta los factores antes mencionados. Sin embargo sería necesario la práctica de estudios con series más amplias y mayor valoración de los hallazgos inmunohistoquímicos para confirmar esta hipótesis.

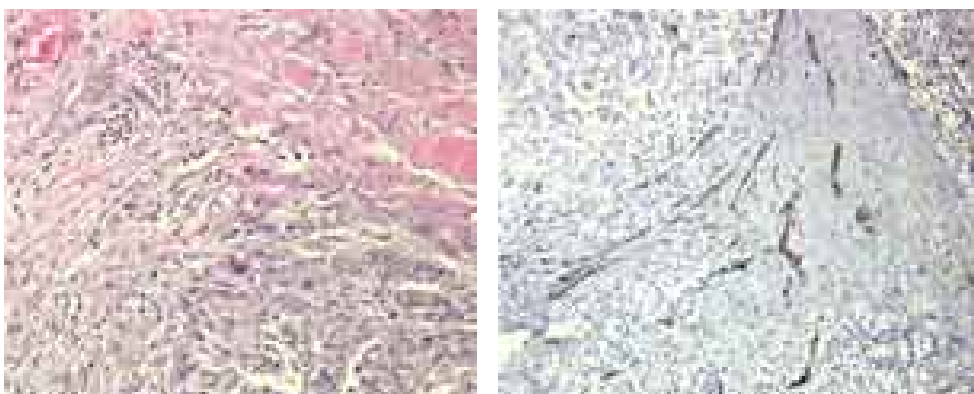


Figura nº22 Angiogénesis. Adenocarcinoma. Fenómenos de proliferación vascular en la periferia del tumor (VEGF).

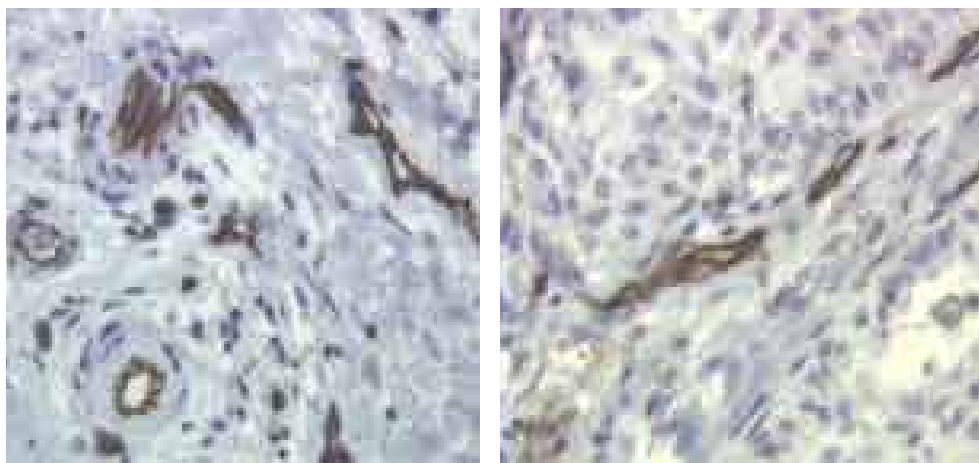


Figura n°23 Adenocarcinoma. Fenómenos de “micro-vessel density”. A mayor aumento inmunohistoquímica con CD 31. Caso clínico n° 1.

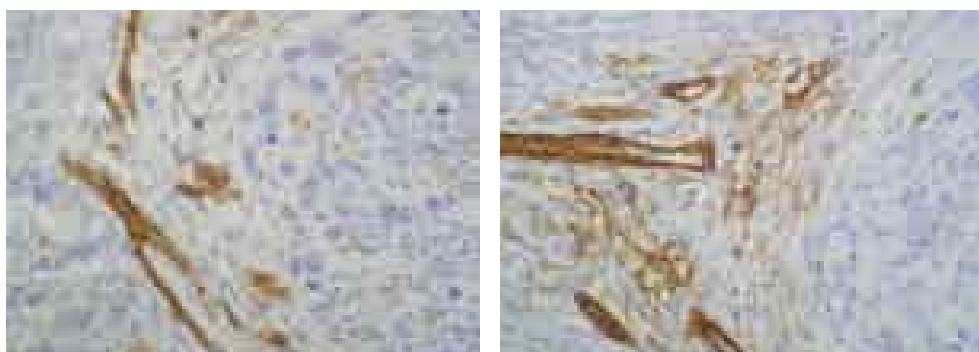


Figura n°24 Carcinoma escamoso. Neovangiogénesis en la periferia tumoral, con formación de microcapilares. Inmunohistoquímica con CD 31. Caso clínico n° 2.

8. PORT SITE METASTASIS. MECANISMOS DE PREVENCION.

8.1. Selección de pacientes.

Aún manteniendo los mismos estandar quirúrgicos laparoscópicos y similar habilidad quirúrgica de los cirujanos implicados en estos procedimientos, hoy día se da cada vez menor importancia a la selección de pacientes previa a la cirugía laparoscópica. Si se cumplen los requisitos quirúrgicos de prevención de estas recurrencias prácticamente no se hallan contraindicaciones a esta cirugía, exceptuando algunos casos concretos de exagerada obesidad o de importantes patologías cardiopulmonares, siendo posibles las indicaciones incluso en casos de carcinomatosis abdominal generalizada.

Otro tema de debate relacionado también con la selección de pacientes sería el abordaje de la masa anexial por laparoscopia. Un meticuloso estudio previo, con determinaciones de los marcadores tumorales y la realización de ecografías vaginales con Doppler, nos puede evitar que la masa anexial tenga que ser fragmentada o sufra roturas durante el acto quirúrgico, que en el caso de tumores borderline o carcinomas de ovario en estadio precoz haga preciso el uso posterior de terapéuticas adyuvantes.

8.2. Lavados de los orificios de los trocares.

Múltiples agentes han sido utilizados en un intento de disminuir la incidencia de port-site metástasis. Jacobi et al. (196) evalúan la incidencia de la aplicación intraabdominal de heparina y taurolidina en ratas, la primera por ligarse a la fibronectina, la cual es una matrix proteina extracelular responsable de la adherencia de las células tumorales, y la segunda porque inhibe la producción de interleukin-1. Sin embargo en la práctica clínica, la heparina no ha sido capaz de reducir la incidencia de metástasis de pared abdominal.

Sugerbaker et al (197) encuentran que la instilación de agentes quimioterápicos

directamente en la cavidad peritoneal como complemento a la cirugía gastrointestinal disminuye la diseminación tumoral y mejora la supervivencia. Eshraghi et al. (198), usando células cancerosas de colon en ratas, mostraron que la irrigación de los orificios de los trocares con 5-fluoruracilo disminuye la incidencia de metástasis (30% versus 81%). Parecen más interesantes desde el punto de vista de su aplicación práctica los resultados de la investigación de Neuhaus et al. (199) el cual randomiza ratas en cuatro grupos: 1) grupo control, 2) instilación intraperitoneal de solución salina, 3) de solución de povidona yodada, y 4) de methotrexate, encontrando reducción tumoral en todos los grupos, de forma preferente en el de povidona yodada.

8.3. Modificaciones quirúrgicas

Ha sido propuesta la exéresis de los orificios de colocación de los trocares, lo cual niega el principio de cirugía mínimamente invasiva, y tampoco garantiza que la herida resultante no pueda a la larga estar involucrada en enfermedad metastásica, además de no saber como definir cuales son los márgenes libres (200).

Parece más útil, desde el punto de vista de su eficacia, el cierre completo de todas las capas peritoneales de los orificios de inserción de los trocares, sobre todo si son de 10-12 mm., según el estudio antes mencionado de van Dam et al (128). Al mismo tiempo, el cuidadoso cierre de la herida peritoneal impediría la posible aparición de posteriores hernias laparoscópicas.

El uso de adecuadas bolsas de plástico para extraer el espécimen tumoral y así impedir el contacto de este con la herida abdominal, no plantea en este momento ninguna duda. A todo esto añadiríamos el intentar la correcta fijación de los trocares, el lavado con povidona yodada de los instrumentos que se intercambian, retirar el gas CO2 manteniendo los trocares en su sitio, aspirar todos los líquidos intraperitoneales, etc.

8.4. Comentarios.

El impacto de los port-site metástasis en la supervivencia de las pacientes es difícil de evaluar sobre todo cuando tratamos cánceres de ovario, en los cuales el seguimiento en la mayoría de pacientes es corto. Con todo no existe evidencia en la literatura de que la cirugía laparoscópica este asociada a una peor supervivencia que la cirugía laparotómica convencional, en cualquier tipo de proceso neoplásico.

Hemos analizado múltiples estudios realizados en humanos y en animales y sus datos deben ser interpretados con cautela porque múltiples factores pueden influenciar los resultados. Muchos de estos resultados reflejan más hallazgos accidentales que no diferencias reales entre distintos grupos. Pueden además existir fallos al comparar procedimientos laparoscópicos con los convencionales laparotómicos, debido a la escasa relevancia de estas recurrencias en la mayoría de autores. Por otro lado el número de células inyectadas en los estudios experimentales influyen el tamaño tumoral de las metástasis, y la biología de las células tumorales puede impactar de forma diferente según los distintos animales utilizados en el experimento.

De todos modos en la ginecología oncológica, continuamos aprendiendo acerca de los port-site metástasis laparoscópicos a través de publicaciones de casos aislados y de series pequeñas. Sin embargo los resultados de un amplio y multi-institucional prospectivo y randomizado ensayo clínico como el GOG LAP2, nos permitirán disipar nuestras dudas acerca de la aplicación e inocuidad de los procedimientos laparoscópicos en el tratamiento quirúrgico de las neoplasias ginecológicas.

9. ANGIOGENESIS

9.1 Definición.

La angiogénesis es la formación de nuevos vasos sanguíneos mediante la proliferación de nuevos capilares a partir de los pre-existentes vasos. Es un proceso distinto de la vasculogénesis, el cual se caracteriza por la formación de vasos sanguíneos “de novo”, pero originados de los angioblastos. La neoangiogénesis precisa siempre de la proliferación de las células endoteliales de los capilares. Inicialmente descrita por Judah Folkman en 1975 (2000), representa un escalón necesario en la incontrolada proliferación, invasión y metástasis de los cánceres. Este proceso incluye tanto la hemangiogénesis como la linfangiogénesis y en relación a las cuales, más de veinte activadores e inactivadores endógenos han sido aislados.

9.2. Promotores e inactivadores de la angiogénesis:

De los numerosos factores activadores de la angiogénesis identificados, los más importantes parecen ser el vascular endotelial growth factor (VEGF), el fibroblastic growth factor ácido y básico (a-FGF y b-FGF), platelet derived growth factor (PDGF), el cual muestra similitud estructural con el VEGF (201). Se han descrito otros posibles factores los cuales incluyen el transforming growth factor alfa y beta (TGF), la angiogenina, la angiotropina, el tumor necrosis factor alfa (TNF), y sobre todo las interleukinas 8 (IL-8) (202).

Entre los inactivadores angiogénicos destacan la angiostatina (203), la gonadotropina coriónica humana, la endostatina (204), los interferones alfa, beta y gamma (IFN) (205). También las interleukinas 12 (IL-12) (206), los inhibidores de la metalo-proteinasas (207), los retinoides (208), etc. Estos inhibidores angiogénicos son relativamente inespecíficos, como por ejemplo los interferones o el platelet factor 4. La

angiostatina se identificó en un fragmento interno del plasminógeno (209) y la endostatina en un fragmento del colágeno XVIII derivado de una línea tumoral celular (210). Agentes terapéuticos tales como la thalidomida o el ácido retinoico también se ha demostrado son de eficacia antiangiogénica (211).

9.3. Mecanismos de la angiogénesis tumoral.

El VEGF actúa como mitógeno de las células endoteliales así como inductor de la formación de túmulos capilares: además este VEGF incrementa la permeabilidad vascular que origina extravasación proteica permitiendo así su designación alternativa de factor de permeabilidad vascular (VPF). Los microcapilares que rodean al tumor son extremadamente hiperpermeables a las proteínas plasmáticas circulantes: estas macromoléculas atraviesan el endotelio vascular mediante las “organelle” vesiculo-vasculares, las cuales solo actúan en presencia del VPF, sin el cual serían impermeables, demostrando así el mecanismo por el cual el VPF incrementa la permeabilidad vascular (212).

El VEGF fue identificado por Dvorak et al. (213) en 1979 y se trata de una glicoproteína con un peso molecular de 34 a 42 kd. Al menos cuatro isoformas de VEGF se han identificado: los aminoácidos 121, 165, 189 y 206. La expresión de VEGF es regulada por estímulos exógenos tales como la hipoxia tisular, pero puede también ser inducida por algunos oncogenes y sabemos que se sobreexpresa en las células tumorales. Su inhibición causa regresión de los vasos sanguíneos inmaduros pero no altera a los maduros. El VEGF receptor consiste en un extracelular binding domain y su intracelular tirosin-kinase domain, y a su vez para ser activado precisa dimerization .

De forma fisiológica, el VEGF se halla sobreexpresado en la fase proliferativa del endometrio, así como en el folículo y cuerpo lúteo ováricos (214), en los que cumple una importante función reproductiva. En estos casos los niveles de VEGF son influenciados por las hormonas, por los factores de crecimiento, y por las citokinas. De todos modos la

hipoxia es su mayor regulador particularmente en condiciones patológicas permitiendo incremento de sus niveles y de la vida media del VEGFmRA (215).

Con el descubrimiento de los factores inhibidores de la angiogénesis se ha propuesto el concepto de angiogénesis “switch” basado en el balance entre promotores e inhibidores de la angiogénesis (216), la ruptura del cual provocaría el inicio del proceso de neoangiogénesis. Un ejemplo sería el síndrome de Li-Fraumeni, cuyos pacientes presentan de forma hereditaria una alteración del gen de supresión tumoral p53, resultando un alto riesgo de desarrollar sarcomas de los tejidos blandos. En cultivos celulares la pérdida de la p53 se asocia con la disminución de los niveles del inhibidor thrombospondin 1 (217). Otro ejemplo que se ha sugerido a partir del hallazgo de la angiopoyetin 2 , que es un antagonista natural del angiopoyetin 1 (importante factor angiogénico): ante la ausencia de angiopoyetin 1 aparecen severas anomalías vasculares en los embriones de ratas (218)

9.4. Metodología de la medición de la angiogénesis

Diferentes métodos han sido utilizados para la medición de los procesos angiogénicos en los diferentes tumores. La mayoría de estudios han usado el antígeno factor VIII (factor de von Willebrand), pero actualmente, se tiende a usar la “microvessel density” (MVD) la cual verifica la cuenta de los numerosos capilares neoformados incluyendo aquellos en los que la luz todavía no es visible, en campo microscópico de gran aumento (habitualmente entre 100x y 400x), o bien usando marcadores inmunohistoquímicos tales como el CD31 o el CD34, superiores al factor VIII, en cuanto a la identificación de la neoangiogénesis especialmente en tumores poco diferenciados . Con todo, el CD34 también puede teñir en algunas ocasiones a los fibroblastos del estroma, y el CD31 puede ocasionalmente expresarse en las células inflamatorias. Otros factores reguladores que pueden influenciar la formación de nuevos capilares, pueden ser identificados por inmunohistoquímica mediante

anticuerpos anti-VEGF (vascular endothelial growth factor), anti-IL-8 (interleukinas-8) y el thrombospondin-1 (219).

Técnicas radiológicas como la Resonancia Nuclear Magnética permiten medir “in vivo” el flujo vascular tumoral; cuantificar el volumen tumoral y sus características vasculares. La resonancia dinámica con contraste puede también permitir la medida del volumen tumoral, y del volumen vascular o incluso de la permeabilidad vascular. Esta técnica ha sido ya probada en el estudio del cáncer cervical uterino antes de la práctica de la histerectomía radical o de la radioterapia neoadyuvante, resultando que la presencia de hipoxia tumoral se correlaciona con un pronóstico desfavorable para la supervivencia de la paciente (220). Tecnologías especializadas que nos permiten realizar angiografías 3 D color power, mediante ultrasonidos de alta resolución, y por tanto superiores al color Doppler convencional nos hacen posible visualizar la arquitectura vascular peritumoral y también el contaje de los vasos sanguíneos (220).

Determinaciones serológicas mediante mediciones seriadas del VEGF en pacientes afectas de tumores sólidos, han demostrado también relación con el estadio de la enfermedad, con la respuesta al tratamiento y con la probabilidad de recidivas (221-224). Incrementos de los niveles séricos de la angiogenina, otro potente mediador de la neovascularización, segregado tanto por las células inflamatorias como las tumorales, se correlaciona directamente con el estadio de la enfermedad en pacientes afectas de cáncer endometrial (225) y que presentan cáncer cervical uterino (226) e inversamente de forma proporcional con el pronóstico (227).

Existen múltiples estudios referentes a los fenómenos de angiogénesis tumoral, pero quizás merece mayor atención la publicación de Abulafia et al. (219) referente al cáncer cervical y a otras neoplasias ginecológicas.

9.5. Angiogénesis en el cáncer cervical invasivo.

En su publicación, Wiggins et al. (228) analizan mediante inmunohistoquímica la presencia de antígeno relativo al factor VIII en biopsias de conizaciones cervicales o de histerectomía en 34 pacientes afectas de carcinoma escamoso primario del cérvix. La presencia de microcapilares en las pacientes con carcinoma de células escamosas eran significativamente superiores a las de las pacientes-control: 56 ± 28.9 versus 16.3 ± 3.3 , $P = 0.013$. No se encontró correlación entre el número de microcapilares y el estado de los ganglios linfáticos, afectación parametrial, profundidad de inversión o enfermedad avanzada, sin embargo el mayor conteo de microvasos se correlacionaba significativamente con la afectación de los espacios linfo-vasculares. Los autores concluyen que la angiogénesis podría ser un importante factor de predicción para la aparición de enfermedad recurrente en el carcinoma escamoso de cérvix, y posiblemente de valor pronóstico en pacientes que no ofrecen otros factores de riesgo para la recidiva tumoral.

No obstante, otros autores encuentran relaciones contrarias. Rutgers et al. (229) no hallan correlación entre la vascularización tumoral y el pronóstico en carcinomas en estadio I-IV. Kainz et al. (230) comparan el estadio IB con el estadio IIB del cáncer cervical, y de forma similar tampoco encuentran correlación entre la angiogénesis y el estadio tumoral.

Schlenger et al. (231) identifican la vascularización tumoral mediante inmunohistoquímica usando el antígeno relativo al factor VIII en 42 pacientes afectas de cáncer cervical > 3 cm. en su mayor diámetro, estadios FIGO IB-IVA. De éstas, 38 presentaron carcinoma escamoso, dos tenían carcinoma adeno-escamoso y otras dos adenocarcinoma. Estos autores establecieron un análisis mediante un sistema de imagen computarizada para cuantificar la microvascularización tumoral, la cual se mostro independiente de la edad, estadio FIGO, tamaño tumoral, diferenciación tumoral, metástasis en los nódulos linfáticos y afectación de los espacios linfáticos. Sin embargo después

del tratamiento mediante cirugía o radioterapia, y un seguimiento medio de 18 meses, las pacientes con mayor vascularización peritumoral presentaron de forma significativa inferiores supervivencias ($P=0.032$) y periodos libres de enfermedad ($P=0.025$) que las con inferior vascularización. Este estudio identificaba la vascularización tumoral como el más fuerte independiente factor pronóstico en este grupo de pacientes.

Dellas et al. (232) estudiaron la angiogénesis en 130 biopsias cervicales (20 normales, 20 SIL de bajo grado, 40 SIL de alto grado y 58 carcinomas invasivos) mediante inmunohistoquímica para el CD31, señalando que la densidad microcapilar juntamente con la profundidad de invasión del tumor, el estado ganglionar y la invasión de espacios linfo-vasculares son factores pronósticos independientes de la supervivencia global para las pacientes con estadio IB de la enfermedad.

Dinh et al. (233) estudian el conteo de los microvasos como un factor independiente para predecir la recurrencia en 22 biopsias de pacientes con carcinoma escamoso de cérvix estadio IB, comparándolo al mismo tiempo con otros factores indicadores de pronóstico como la edad, tamaño tumoral, grado tumoral, invasión linfo-vascular, duración del seguimiento y tipo de terapéutica: únicamente un alto conteo microcapilar y el tamaño tumoral fueron identificados como factores independientes de predicción de recidiva.

En los especímenes tisulares del carcinoma epitelial de cérvix se pueden observar incrementos mRNA del VEGF, del factor de crecimiento fibroblástico (b-FGF) y de las matrix-metaloproteinasas (MMP-9) (234), incrementos también de las interleukinas y del plasminógeno activador de la urokinasa (235). La interleukina 8 (IL-8) puede ser indicador pronóstico de los factores angiogénicos (236). También han sido estudiados marcadores serológicos de la angiogénesis en pacientes afectas de carcinoma cervical tales como la expresión sérica de VEGF, cuyo incremento se ha relacionado con los estadios avanzados de la enfermedad (237), así como con los niveles altos de la angiogenina (238).

9.6. Angiogénesis en otros tumores ginecológicos.

De forma parecida a los estudios sobre el significado de la angiogénesis en el cáncer cervical, Abulafia et al., usando métodos inmunohistoquímicos como el antígeno factor VIII, investigan en hiperplasias de endometrio y estadio I de carcinoma endometrial (239). El estudio consistió en examinar las biopsias de 24 pacientes con hiperplasia de endometrio (12 simples y 12 complejas) y 34 úteros de pacientes intervenidas de cáncer endometrial estadio I (13 estadio Ia y 21 estadio Ib-Ic) y compararlas con 19 úteros obtenidos de pacientes con enfermedad benigna. Encuentran diferencias significativas entre la hiperplasia simple y la compleja, pero bastante similitud con el carcinoma escasamente invasivo, concluyendo que tanto la hiperplasia endometrial atípica como el carcinoma invasor inicial son tumores fuertemente angiogénicos, y que la intensidad angiogénica se correlaciona directamente en el carcinoma endometrial con la mayor profundidad de invasión miometrial y con más alto grado tumoral. Usando similar metodología, Kaku et al. (240) estudian una serie de 85 biopsias obtenidas de pacientes con carcinoma de endometrio estadio I y II, confirmando que la densidad microcapilar se correlaciona directamente con el grado tumoral, la invasión miometrial y la afectación de los espacios linfo-vasculares, concluyendo que una alta “microvessel density” tiene significativo peor período libre de enfermedad y de supervivencia global, y lo consideran como factor pronóstico independiente. Jikihara et al. (241) investigan el efecto de la medoxiprogesterona sobre la angiogénesis en el carcinoma endometrial, implantando estas células en córneas de conejo. El trasplante de tejido de carcinoma endometrial inducía angiogénesis en el 70.4% de las córneas, mientras que si se acompañaban al trasplante fragmentos de acetato de medoxiprogesterona se evidenciaba angiogénesis en solo el 21.5% de las córneas, concluyendo que esta inhibición de la angiogénesis podría ser uno de los mecanismos por los cuales la medoxiprogesterona inhibe el crecimiento del carcinoma endometrial.

Paley et al. examinan muestras biópsicas de carcinoma ovárico de pacientes con estadio I y II de la enfermedad investigando la sobreexpresión del VEGF (242). Estos autores encuentran que 29 muestras tumorales sobreexpresan VEGF mientras que otras 39 no lo manifiestan. Después de excluir los tumores borderline, el periodo medio libre de supervivencia fue de 18 meses para los VEGF- positivos comparado con mas de 120 meses para el grupo de los VEGF- negativos ($P < 0.001$). Hollingsworth et al. estudian la angiogénesis usando inmunohistoquimia para el CD 34 (243). Un total de 49 especímenes biópsicos de pacientes con cáncer de ovario estadio III y IV fueron examinados con conteo de los microcapilares, asociándose el aumento del número de ellos y el estadio de la enfermedad con la supervivencia global y el periodo libre de enfermedad, concluyendo que el análisis de la neovascularización en estadios avanzados del carcinoma ovárico podría ser utilizado como indicador de pronóstico. Abulafia et al. evalúan la angiogénesis en los ovarios y metástasis epiploicas en pacientes con carcinoma epitelial de ovario (244). Muestras biópsicas de 42 consecutivas pacientes con carcinoma epitelial de ovario estadios I-IV y metástasis en el omento de 19 pacientes estadio IIIb o IIIc de la enfermedad fueron examinadas por inmunohistoquimia para el antígeno relativo al factor VIII, demostrando que el conteo microcapilar de las metástasis epiploicas de las pacientes con estadio IIIb o IIIc de cáncer ovarico se correlacionaban directamente con los niveles de Ca-125 preoperatorio ($P=0.028$) y con la supervivencia global de las pacientes ($P=0.019$). Del mismo modo, el conteo microcapilar de los ovarios examinados no se relacionaba con la edad de la paciente, estadio de la enfermedad, tamaño tumoral o los niveles preoperatorios de Ca-125, ni con los contajes correspondientes a las metástasis epiploicas. Concluyen estos autores que el conteo microcapilar de las metástasis epiploicas serviría como un independiente indicador pronóstico de supervivencia en pacientes con cáncer de ovario avanzado.

9.7. Inhibidores angiogénicos en el cáncer cervical y sus lesiones premalignas.

Han sido ensayados algunos inhibidores de la angiogénesis en el cáncer cervical, y así vemos que un incremento en la expresión del TSP-1 mRNA se correlaciona con mejor supervivencia de la enfermedad (245), como también incrementos de la expresión del TSP-2 en los casos en los que no aparecen recurrencias (234). Estadios precoces del carcinoma escamoso de cérvix son uniformemente negativos para la fibronectina, aunque sin correlación con la edad de la paciente, grado tumoral o supervivencia global (246). Di Roberto et al. (247) en su estudio encuentran niveles elevados de PF4 en aproximadamente un 70% de los casos de carcinoma cervical de su estudio. La angiogénesis también se encuentra estimulada en las lesiones premalignas del cérvix: aumento de la “microvessel density” y altas expresiones de VEGF se encuentran también en las zonas situadas entre las lesiones CIN y su estroma subyacente (248). También se halla un incremento gradual de la densidad capilar y la expresión de VEGF del cervix normal al CIN 1 y en la progresión de éste al CIN 3 y a su vez al carcinoma invasor, así como una fuerte correlación entre la densidad vascular y la expresión del VEGF (249).

10. TERAPIA ANTIANGIOGENICA

10.1. Generalidades

A causa del importante papel de la angiogénesis en la carcinogénesis y en la progresión de la enfermedad neoplásica, y por el hecho de que la actividad angiogénica sea inversamente proporcional al pronóstico en estadios precoces y/o avanzados de la enfermedad, la inhibición de la angiogénesis tumoral podría ser un método efectivo para frenar la progresión tumoral. Las ventajas de los antiangiogénicos como arma terapéutica sobre los agentes citotóxicos son numerosas. La acción de los agentes antiangiogénicos es independiente de los mecanismos de resistencia de las células tumorales y también del tipo tumoral. Más de 75 terapias con objetivos antiangiogénicos se hallan en desarrollo clínico, la mayoría en ensayos en fase I y II, y alrededor de 12 en estudios fase III. El bevacizumab (Avastin®) es la primera droga antiangiogénica aprobada por la Food and Drug Administration para este propósito. Tres tipos de mecanismos de acción han sido objetivados:

- Agentes que inhiben específicamente la formación de nuevos vasos sanguíneos.
- Agentes con objetivo específico sobre el endotelio vascular.
- Otros agentes antiangiogénicos

10.2. Agentes que inhiben específicamente la formación de nuevos vasos sanguíneos.

Son principalmente los inhibidores del factor vascular de crecimiento endotelial (VEGF). El VEGF se liga al VEGF receptor y activa los receptores tirosin-kinasas expresados por las células endoteliales: el VEGFR-1 y el VEGFR-2. Condiciones ambientales tales como el pH, las presiones intersticiales y los niveles de oxígeno estimulan la expresión de VEGF. El bevacizumab (250) es un anticuerpo que bloquea al VEGF y disminuye su viabilidad en la periferia del tumor. A su vez el bevacizumab es una versión

recombinante del anticuerpo monoclonal murine anti-human VEGF. La inhibición del VEGF bloquea el crecimiento de diferentes líneas celulares de cáncer humano en las ratas inmunodeprimidas, interfiriendo con la proliferación de las células endoteliales. Estudios en fase III se están desarrollando en tumores no ginecológicos tales como tumores de pulmón (251), cáncer colorrectal (252), y otros ensayos se desarrollan a partir de moléculas pequeñas con potencial inhibidor de la tirosin-kinasa, cuya especificidad todavía se halla sometida a más amplia investigación (253-255).

10.3. Agentes con objetivo específico sobre el endotelio vascular.

Estos actúan como “venenos” del endotelio vascular y por tanto inducen la necrosis tumoral. Las vaso-toxinas cuyas moléculas inducen la trombosis dentro del vaso afecto, u otros que incluyen la thrombostatin 4 A o los análogos de la fumagillin, los cuales actuarían como inhibidores selectivos de la proliferación y de la migración de las células endoteliales en el mecanismo angiogénico, mediante la inhibición de la methionine amino-peptidasa-2 (TAP Pharmaceuticals) (256). Otros actúan como inhibidores de la adhesión, tal como la anti-VE-cadherin y la anti-vitronectin integrin receptor, los cuales también juegan un importante papel en la inhibición del asentamiento metastático (257). Los agentes que son citotóxicos para las células tumorales y para las endoteliales son de dos clases: los agentes citotóxicos que afectan los microtúbulos, como los taxanos colchicina y halimides, y los productos de coagulación como las endostatinas identificadas por J.Folkman (258), y mediante las cuales las metástasis no se desarrollan mientras el tumor primario está presente.

10.4. Otros agentes antiangiogénicos.

Los interferones fueron los primeros reguladores antiangiogénicos endógenos identificados. Los interferones alfa y beta inhiben la angiogénesis a través de la

desregulación de las interleukinas 8 (IL-8) de las matriz metalo-proteinasas (MMP-9) y del basic fibroblastic growth factor (b-FGF). D'Amato en 1994 (211) confirmó las propiedades antiangiogénicas de la thalidomida, cuyo mecanismo de acción no está del todo bien comprendido, pero que podría deberse a cambios en los niveles de citokinas o a una inmuno-modulación. La cyclo-oxigenasa 2 está sobreexpresada en la gran mayoría de cánceres, y la inhibición de este enzima por drogas antiinflamatorias no esteroideas reducen el desarrollo de cánceres en humanos y suprimen el crecimiento tumoral en modelos animales, posiblemente mediante la supresión del factor de crecimiento fibroblástico (FGF-2) in vivo (259).

10.5. Estudios clínicos sobre terapias antiangiogénicas en el cáncer cervical.

Kudelka et al. (260) en el primer estudio fase I publicado administra TNP-470, un inhibidor angiogénico y análogo sintético del fumagillin (un antibiótico segregado por el *Aspergillus fumigatus fresenius*) a 18 pacientes afectas de cáncer cervical uterino avanzado. El TNP-470 inhibe la proliferación de las células endoteliales, su migración y la consiguiente formación de los túbulos capilares. La actividad antitumoral se observó en cuatro pacientes, de las cuales una manifestó respuesta completa y, las otras tres, estabilización de la progresión de la enfermedad. Además, las pacientes con metástasis pulmonares se beneficiaron con mayor frecuencia de este tratamiento: cuatro de siete pacientes con afectación pulmonar demostraron mejoría clínica, tres de ellas con estabilización de la enfermedad y otra obtuvo resolución completa de sus metástasis pulmonares.

10.6. Conclusiones.

En resumen, no cabe duda que los procesos de neoangiogénesis son necesarios para la progresión tumoral. Suelen presentarse en condiciones de hipoxia tisular, o como

en los casos que nos ocupan, cuando la necrosis del tejido graso condiciona la aparición de la acidosis y un incremento de promotores angiogénicos, como las interleukinas 8, favoreciendo la angiogénesis capilar. Su presencia en la periferia tumoral nos sugiere la posibilidad de crecimiento tumoral, y por tanto, también de recidivas locales, lo cual nos hace pensar en la aplicación de nuevas terapias antiangiogénicas para el tratamiento de estas pacientes. En los casos clínicos presentados podrían estos mecanismos ser considerados como un nuevo factor etiológico de aparición de estas “port site metastasis”

7. BIBLIOGRAFIA

1. Zanetta G, Lissoni A, Gabriela A, Landoni F, Colombo A, Perego P, Mangioni C. Intense neoadjuvant chemotherapy with cisplatin and epirubicin for advanced or bulky cervical and vaginal adenocarcinoma. *Gynecol Oncol* 1997; 64:431-5.
2. Wertheim E. Zur frage der radikalopertion beim uterus-krebs. *Arch Gynäkol* 1900; 61:627-668.
3. Latzko W, Schiffmann J. Klinisches und anatomisches zur radikaloperation des Gebärmutterhalskrebses. *Zentralbl Gynäkol* 1919; 34:689-719.
4. Piver MS, Rutledge F, Smith JP. Five classes of extended hysterectomy for women with cervical cancer. *Obstet Gynecol* 1974; 44:265-272.
5. Magrina JF, Goodrich MA, Lidner TK, Weaver AL, Cornella JL, Podratz KC. Modified radical hysterectomy in the treatment of early squamous cervical cancer. *Gynecol Oncol* 1999; 72:183-186.
6. Burghardt E, Winter R, Tamussino K, Pickel H, Lahousen M, Haas J, Girardi F, Ebner F, Hackl A, Pfister H. Diagnosis and treatment of cervical cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 1994; 17:181-231.
7. Lawton FG, Hacker NF. Surgery for invasive gynaecologic cancer in an elderly female population. *Obstet Gynecol* 1990; 76:287-289.
8. Tamussino K, Winter R, Lang PF. The cardinal ligament: surgical anatomy and resection CME *Gynecol Oncol* 1997; 2:265-271.
9. Burghardt E, Haas J, Girardi F. The significance of parametrium in the operative treatment of cervical cancer. *Bailliere's Clin Obstet Gynaecol* 1988; 2:879-888.
10. Girardi F, Lichtenegger W, Tamussino K, Haas J. The importance of parametrial lymph nodes in the treatment of cervical cancer. *Gynecol Oncol* 1989; 34:206-11.
11. Baltzer J, Lohe KJ, Kopcke W, Zander J. Histological criteria for the prognosis in

- patients with operated squamous cell carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1982; 13:184-194.
12. Dargent DF. Laparoscopic techniques for gynaecologic cancer: description and indications. *Hematol Oncol Clin North Am* 1999; 13:1-19.
 13. Hsieh YY, Lin WC, Chang CC, Yeh LS, Hsu YT, Tsai HD. Laparoscopic radical hysterectomy with low paraaortic, subaortic and pelvic lymphadenectomy. Results of short-term follow-up. *J Reprod Med* 1998; 43:538-544.
 14. Dottino PR, Tobias DH, Beddoe AM, Golden AL, Cohen CJ. Laparoscopic lymphadenectomy for gynaecologic malignancies. *Gynecol Oncol* 1999; 73:383-88.
 15. Leblanc E, Querleu D, Castelain B, Ocelli B, Chauvet MP, Chevalie A, Lesoin A, Vilain MO, Taieb S. Role of laparoscopy in the management of uterine cervix cancer. *Cancer Raiother* 2000; 4:113-121.
 16. Spirtos NM, Schlaerth JB, Kimball RE, Leiphart VM, Ballon SC. Laparoscopic radical hysterectomy (type III) with aortic and pelvic lymphadenectomy. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174:1763-68.
 17. Winter R, Haas J, Reich O, Kometter R, Tamussino K, Lahousen M, Petru E, Pickel H. Parametrial spread of cervical cancer in patients with negative pelvic lymph nodes. *Gynecol Oncol* 2002; 84:252-57.
 18. Magrina JF, Walter AJ, Schild SE. Laparoscopic radical parametrectomy and pelvic an aortic lymphadenectomy for vaginal carcinoma: a case report. *Gynecol Oncol* 1999; 75:514-16.
 19. Kohler C, Tozzi R, Klemm P, Schneider A. "Schauta sine utero": technique and results of laparoscopic vaginal radical parametrectomy. *Gynecol Oncol* 2003; 91:359-68.
 20. Lee Cl, Huang KG. Total laparoscopic radical parametrectomy. *J Minim Invasive*

Gynecol 2005; 12:168-70.

21. Diaz-Feijoo B, Gil-Moreno A, Puig O, Martinez-Palones JM, Xercavins J. Total laparoscopic radical trachelectomy with intraoperative sentinel node identification for early cervical stump cancer. . J Minim Invasive Gynecol 2005; 12:522-24.
22. Cosin JA, Fowler JM, Chen MD, Paley PJ, Carson LF, Twiggs LB. Pretreatment surgical staging of patients with cervical carcinoma: the case for lymph node debulking. Cancer 1998; 82:2241-48.
23. Spirtos NM, Eisenkop SM, Schlaerth JB, Ballon SC. Laparoscopic radical hysterectomy (type III) with aortic and pelvic lymphadenectomy in patients with stage I cervical cancer : surgical morbidity and intermediate follow-up. Am J Obstet Gynecol 2002; 187:340-48.
24. Nezhat CR, Nezhat FR, Burrell MO, Ramirez CE, Welander C, Carrodegua J, Nezhat CH. Laparoscopic radical hysterectomy with pelvic and paraaortic node dissection. J Gynecol Surg; 1993;9:105-20.
25. Eisenkop SM, Spirtos NM, Lin WM, Felix J. Laparoscopic modified radical hysterectomy: a strategy for a clinical dilemma. Gynecol Oncol 2005; 96:484-9.
26. Dargent D, Ansquer Y, Mathevet P. Technical development and results of left extraperitoneal laparoscopic paraaortic lymphadenectomy for cervical cancer. Gynecol Oncol 2000; 77:87-92.
27. Querleu D, Dargent D, Ansquer Y, Leblanc E, Narducci F. Extraperitoneal endosurgical aortic and common iliac dissection in the staging of bulky or advanced cervical carcinomas. Cancer 2000; 88:1883-91.
28. Sonoda Y, Leblanc E, Querleu D, Castelain B, Papageorgiou TH, Lambaudie E, Narducci F. Prospective evaluation of surgical staging of advanced cervical cancer via a laparoscopic extraperitoneal approach. Gynecol Oncol 2003; 91:326-31.
29. Marchiole P, Buenerd A, Benchaib M, Nezhat K, Dargent B, Mathevet P. Clinical

significance of lympho vascular space involvement and lymph node micrometastases in early-stage cervical cancer: a retrospective case-control surgico.pathological study. *Gynecol Oncol* 2005; 97:725-26.

30. Creasman WT, Kohler MF. Is lymph vascular space involvement an independent prognostic factor in early cervical cancer?. *Gynecol Oncol* 2004; 92:525-29.
31. Ayhan A, Al RA, Baykal C, Demirtas E, Ayhan A, Yuce K. Prognostic factors in FIGO stage IB cervical cancer without lymph node metastasis and the role of adjuvant radiotherapy after radical hysterectomy. *Int J Gynecol Cancer* 2004; 14:286-92.
32. Chernofsky MR, Felix JC, Muderspach LI, Morrow CP, Ye W, Groshen SG, Roman LD. Influence of quantity of lymph vascular space invasion on time to recurrence in women with early-stage squamous cancer of the cervix. *Gynecol Oncol* 2006; 100:288-93.
33. Hoffman MS. Extent of radical hysterectomy: evolving emphasis. *Gynecol Oncol* 2004; 94:1-9.
34. Ercoli A, Delmas V, Gadonneix P, Fanfani F, Villet R, Paparella P, Mancuso S, Scambia G. Classical and nerve-sparing radical hysterectomy: an evaluation o the risk of injury to the autonomous pelvic nerves. *Surg Radiol Anat* 2003; 25:200-6.
35. Querleu D, Narducci F, Poulard V, Lacaze S, Ocelli B, Leblanc E, Cosson M. Modified radical vaginal hysterectomy with or without laparoscopic nerve-sparing dissection : a comparative study. *Gynecol Oncol* 2002; 85:154-58.
36. Raspagliesi F, Ditto A, Kusamura S, Fontanelli R, Spatti G, Solima E, Zanaboni F, Carcangiu ML. Nerve-sparing radical hysterectomy: a pilot study. *Tumori* 2003; 89:497-501.
37. Possover M. Technical modification of the nerve-sparing laparoscopy-assisted vaginal radical hysterectomy type 3 for better reproducibility of this procedure. *Gynecol Oncol* 2003; 90:245-7.

38. Raspagliesi F, Ditto A, Fontanelli R, Solima E, Hanozet F, Zanaboni F, Kusamura S. Nerve-sparing radical hysterectomy: a surgical technique for preserving the autonomic hypogastric nerve. *Gynecol Oncol* 2004; 93:307-14.
39. Sato K, Sato T. The vascular and neuronal composition of the lateral ligament of the rectum and the rectosacral fascia. *Surg Radiol Anat* 1991; 13:17-22.
40. Sakuragi N, Todo Y, Kudo M, Yamamoto R, Sato T. A systematic nerve-sparing radical hysterectomy technique in invasive cervical cancer for preserving postsurgical bladder function. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15:389-97.
41. Sakamoto S, Takizawa K. An improved radical hysterectomy with fewer urological complications and with no loss of therapeutic results for invasive cervical cancer. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1988; 2:953-62.
42. Possover M, Quakernack J, Chiantera V. The LANN technique to reduce postoperative functional morbidity in laparoscopic radical pelvic surgery. *J Am Coll Surg* 2005; 201:913-17.
43. Katahira A, Niikura H, Kaiho Y, Nakagawa H, Kurokawa K, aria Y, Yaegashi N. Intraoperative electrical stimulation of the pelvic splanchnic nerves during nerve-sparing radical hysterectomy. *Gynecol Oncol* 2005; 98:462-66.
44. Landoni F, Maneo A, Colombo A, et al. Randomised study of radical surgery versus radiotherapy for stage IB-IIA cervical cancer. *Lancet* 1997; 350:535-40.
45. Benedet J, Odicino F, Maisonneuve P, et al. Carcinoma of the cervix uteri. *J. Epidemiol Biostat* 1998; 3:5-34.
46. Barillot I, Horiot JC, Pigneux J, et al. Carcinoma of the intact uterine cervix treated with radiotherapy alone: a French cooperative study: update and multivariate analysis of prognostic factors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997; 38:969-78.
47. Perez CA, Grigsby PW, Camel HM, et al. Irradiation alone or combined with surgery in stage IB, IIA and IIB carcinoma of the uterine cervix: update of a nonrandomized

- comparison. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 31:703-16.
48. Keys HM, Bundy BN, Stehman FB, Muderspach LI, Chafe WE, Suggs CL, Walker JL, Gersell D. Cisplatin, radiation, and adjuvant hysterectomy compared with radiation and adjuvant hysterectomy for bulky stage IB cervical carcinoma. *N Engl J Med* 1999; 340:1154-61.
 49. Rose PG, Bundy PN, Watkins EB, Thigpen JT, Deppe G, Maiman MA, Clarke-Pearson DL, Insalaco S. Concurrent cisplatin-based radiotherapy and chemotherapy for locally advanced cervical cancer. *N Engl J Med* 1999; 340:1144-53.
 50. Morris M, Eifel PJ, Lu J, Grigsby PW, Levenback C, Stevens RE, Rotman M, Gershenson DM, Mutch DG. Pelvic radiation with concurrent chemotherapy compared with pelvic and para-aortic radiation for high-risk cervical cancer. *N Engl J Med* 1999; 340:1137-43.
 51. Thomas G, Dembo A, Ackerman I, Franssen E, Balogh J, Fyles A, Levin W. A randomized trial of standard versus partially hyperfractionated radiation with or without concurrent 5-fluorouracil in locally advanced cervical cancer. *Gynecol Oncol* 1998; 69:137-45.
 52. Whitney CW, Sause W, Bundy BM, Malfetano JH, Hannigan EV, Fowler W, Clarke-Pearson DL, Liao SY. Randomized comparison of fluorouracil plus cisplatin versus hydroxyurea as an adjunct to radiation therapy in stage IIB-IVA carcinoma of the cervix with negative para-aortic lymph nodes: a Gynecologic Oncology Group and Southwest Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 1999; 17:1339-1348.
 53. Peters WA, Liu PY, Barrett RJ, Stock RJ, Monk BJ, Berek JH, Souhami L, Grigsby P, Gordon W, Alberts DS. Concurrent chemotherapy and pelvic radiation therapy compared with pelvic radiation therapy alone as adjuvant therapy after radical surgery in high-risk early-stage cancer of the cervix. *J Clin Oncol* 2000; 18:1606-1613.

54. Braithwait LR. The flow of lymph from the ileocaecal angle, and its possible bearing on the cause of duodenal and gastric ulcer. *Br J Surg* 1923; 11:7-26.
55. Gould EA, Winship T, Philbin PH, Kerr HH. Observations on a "sentinel node " in cancer of the parotid. *Cancer* 1960; 13:77-8.
56. Sayegh E, Brooks T, Sacher E, Busch F. Lymphangiography of the retroperitoneal lymph nodes through the inguinal route. *J Urol* 1966; 95:102-7.
57. Cabanas RM. And approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 1977; 39:456-66.
58. Wong JH, Cagle LA, Morton DL. Lymphatic drainage of skin to a sentinel lymph node in a feline model. *Ann Surg* 1991; 214:637-41.
59. Morton DL, Wen DR, Wong JH, Economou JS, Cagle LA, Storm FK, Foshag LJ, Cochran AJ. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992; 127:392-9.
60. Echt ML, Finan MA, Hoffman MS, Kline RC, Roberts WS, Fiorica JV. Detection o sentinel lymph node whith lymphazurin in cervical, uterine, and vulvar malignancies. *South Med J* 1999;92:204-8.
61. Reintgen D, Cruse CW, Wells K, Berman C, Fenske N, Glass F, Schroer K, Heller R, Ross M, Lyman G, et al. The orderly progressions of melanoma nodal metastases. *Ann Surg* 1994; 220:759-67.
62. Thompson JF, Mc Carthy WH, Bosch CM, O'Brien CJ, Quinn MJ, Paramaesvaran S, Crotty K, McCarthy SW, Uren RF, Howman-Giles R. Sentinel lymph node status as am indicator of the presence of metastatic melanoma in regional lymph nodes. *Melanoma Res* 1995; 5:255-60.
63. de Wilt JHW, Thompson JF, Uren RF, McCarthy WH, O'Brien CJ, Quinn MJ, Shannon KF, Ka VSK, Scolyer RA. Correlation between preoperative lymphoscintigraphy and metastasic nodal disease sites in 362 patients with

- cutaneous melanomas of the head and neck. *Ann Surg* 2004; 239:544-52.
64. Nieweg OE, Estourgie SH. Summary of the Third International Sentinel Node Conference, November 2002, Yokohama. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003; 30:483-7
 65. Scolyer RA, Thompson JF, Li LX, Beavis A, Dawson M, Doble P, Ka VSK, McKinnon JG, Soper R, et al. Failure to remove “true” sentinel nodes can cause failure of the sentinel node biopsy technique. Evidence from antimony quantification of false negative sentinel nodes from melanoma patients. *Ann Surg Oncol* 2004; 11:174S-178S.
 66. Uren RF, Howman-Giles RB, Chung D, Thompson JF. Role of lymphoscintigraphy for selective sentinel lymphadenectomy. *Cancer Treat Res* 2005; 127:15-38.
 67. Munkarah AR, Jhingran A, Iyer RB, Wallace S, Eifel PJ, Gershenson D, Burke TW. Utility of lymphangiography in the prediction of lymph node metastases in patients with cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2002; 12:755-59.
 68. Frumovitz M, Coleman RL, Gayed IW, Ramirez PT, Wolf JK, Gerhenson DM, Levenback CF. Usefulness of preoperative lymphoscintigraphy in patients who undergo radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy for cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 194:1186-95.
 69. Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V, Viale G, Zurrada S, Bedoni M, et al. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. *Lancet* 1997; 349:1864-67.
 70. Medl M, Peters-Emgl Schutz P, Vesely M, Sevelda. First report of lymphatic mapping with isosulfan blue dye and sentinel node biopsy in cervical cancer. *Anticancer Res* 2000; 20:113-4.
 71. O’Boyle JD, coleman RL, Bernstein SG, Lifshitz S, Muller CY, miller DS.

- Intraoperative lymphatic mapping in cervix cancer patients undergoing radical hysterectomy: a pilot study. *Gynecol Oncol* 2000; 79:238-43.
72. Metcalf KS, Johnson N, Calvert S, Peel KR. Site specific lymph node metastasis in carcinoma of the cervix: is there a sentinel node?. *Int J Gynecol Cancer* 2000; 10:411-16.
 73. Dargent D, Martin X, Mathevet P. Laparoscopic assessment of sentinel lymph node in early stage cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2000; 79:411-5.
 74. Verheijen RHM, Pijpers R, van Diest PJ, Burger CW, Buist MR, Keneman P. Sentinel node detection in cervical cancer. *Obstet Gynecol* 2000; 96:135-8.
 75. Kamprath S, Possover M, Schneider A. Laparoscopic sentinel lymph node detection in patients with cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182:1648.
 76. Malur S, Krause N, Köhler C, Schneider A. Sentinel Lymph node detection in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2001; 80:254-7.
 77. Lantzsch T, Wolters M, Grimm J, Mende T, Buchmann J, Sliutz G et al. Sentinel node procedure in Ib cervical cancer: a preliminary series. *Br J Cancer* 2001; 85:791-4.
 78. Levenback C, Coleman RL, Burke TW, Lin WM, Erdman W, Deavers M, et al. Lymphatic mapping and sentinel node identification in patients with cervix cancer undergoing radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy. *J Clin Oncol* 2002; 20:688-93.
 79. Rhim CC, Park JS, Namkoong SE. Sentinel node biopsy as an indicator for pelvic nodes dissection in early stage cervical cancer. *J Korean Med Sci* 2002; 17:507-11.
 80. Plante M, Reanud MC, Tetu B, Harel F, Roy M. Laparoscopic sentinel node mapping in early-stage cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2003; 91:494-503.
 81. Van Dam PA, Hauspy J, Venderheyden T, Sonnemans H, Spaepen Eggenstein G, Dirix L, et al. Intraoperative sentinel node identification with technetium-99 m-

- labeled nanocolloid in patients with carcinoma of the uterine cervix: a feasibility study. *Int J Gynecol Cancer* 2003; 13:182-6.
82. Lambaudie E, Collinet P, Narducci F, Sonoda Y, Papageorgiou T, Carpentier P, et al. Laparoscopic identification of sentinel lymph nodes in early stage cervical cancer: prospective study using a combination of patent blue dye injection and technetium radiocolloid injection. *Gynecol Oncol* 2003; 89:84-7.
 83. Chung Y, Kim SH, Sohn HS, Chung SK, Rhim CC, Namkoong SE. Usefulness of lymphoscintigraphy and intraoperative gamma probe detection in the identification of sentinel nodes in cervical cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003; 30:1014-7.
 84. Barranger E, Cortez A, Commo F, Marpeau O, Uzan S, Darai E, et al. Histopathological validation of the sentinel node concept in cervical cancer. *Ann Oncol* 2004; 15:870-4.
 85. Martinez-Palones JM, Gil-Moreno A, Perez-Benavente MA, Roca I, Xercavins J. Intraoperative sentinel node identification in early stage cervical cancer using a combination of radiolabeled albumin injection and isosulfan blue dye injection. *Gynecol Oncol* 2004; 92:845-50.
 86. Marchiole P, Buenerd A, Scoazec JY, Dargent D, Mathevet P. Sentinel lymph node biopsy is not accurate in predicting lymph node status for patients with cervical carcinoma. *Cancer* 2004; 100:2154-9.
 87. Niikura H, Okamura C, Akahira J, Takano T, Ito K, Okamura K, et al. Sentinel lymph node detection in early cervical cancer with combination ^{99m}Tcphytate and patent blue. *Gynecol Oncol* 2004; 94:528-32.
 88. Torné A, Puig-Tintoré LM. The use of sentinel lymph nodes in gynaecological malignancies. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2004; 16:57-64.
 89. Gil-Moreno A, Diaz-Feijoo B, Roca I, Puig O, Perez-Benavente MA, Aguilar I, Martinez Palones JM, Xercavins J. Total laparoscopic radical hysterectomy with

intraoperative sentinel node identification in patients with early invasive cervical cancer. *Gynecol oncol* 2005; 96:187-93.

90. Paredes P, Vidal-Sicart S, Garcia S, Pahisa J, Torne A, Ordi J, et al. Usefulness of the sentinel node in the treatment and staging of inicial cerviz cancer (in Spanish). *Rev Esp Med Nucl* 2004; 23:253-8.
91. Buist MR, Pijpers RJ, van Lingen A, van Diest PJ, Dijkstra J, Kenemans P, Verheijen RH. Laparoscopic detection of sentinel lymph nodes followed by lymph node dissection in patients with stage cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2003; 90:290-96.
92. Pijpers R, Buist MR, Van Lingen A, Dijkstra J, Van Diest PJ, Teule GJ, et al. The sentinel node in cervical cancer: scintigraphy and laparoscopic gamma probe-guided biopsy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2004; 31:1479-86.
93. Roca I, Caresia AP, Gil-Moreno A, Pifarre P, Aguade-Bruix S, Castell-Conesa J, Martinez-Palones JM, Xercavins J. Usefulness of sentinel lymph node detection in early stages of cervical cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2005; 32:1210-1216.
94. Anglioli R, Palaia I, Cipriani C, Muzii L, Calcagno M, et al. Role of sentinel lymph node biopsy procedure in cervical cancer: a critical point of view. *Gynecol Oncol* 2005; 96:504-9.
95. Lin YS, Tzeng CC, Huang KF, Kang CY, Chia CC, Hsieh JF. Sentinel node detection with radiocolloid lymphatic mapping in early invasive cervical cancer. *In J Gynecol Cancer* 2005; 15:273-7.
96. Silva LB, Silva-Filho AL, Traiman P, Triginelli SA, de Lima CF, Siquiera CF, Barroso A, Rossi TM, et al. Sentinel node detection in cervical cancer (99 m) Tc-phytate. *Gynecol Oncol* 2005; 97:588-95.
97. Rob L, Sornad P, Robova H, Charvat M, Pluta M, Schlegerova D, Hrehorcak M.

Study of lymphatic mapping and sentinel node identification in early stage cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2005; 98:281-88.

98. Di Stefano AB, Acquaviva G, Garozzo G, Barbic M, Cvjeticanin B, Meglic L, Kobal B, Rkar S. Lymph node mapping and sentinel node detection in patients with cervical carcinoma: a 2-year experience. *Gynecol Oncol* 2005; 99:671-79.
99. Hoskin RW, Ganger R. Intraoperative decrease in pulse oximetry readings following injection of isosulfan blue. *Can J Anaesth* 2003; 48:38-40.
100. Dottino PR, Tobias DH, Beddoe A, Goleen AL, Cohen CJ. Laparoscopic lymphadenectomy for gynecologic malignancies. *Gynecol Oncol* 1999; 73:383-8.
101. Lee CL, Huang KG. Total laparoscopic radical hysterectomy using Lee-Huang portal and McCartney transvaginal tube. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 2002; 9:536-40.
102. Abu-Rustum NR, Gemignani ML, Moore K, Sonoda Y, Venkatraman C, Brown C et al. Total laparoscopic radical hysterectomy with pelvic lymphadenectomy using the argon-beam coagulator: pilot data and comparison to laparotomy. *Gynecol Oncol* 2003; 91:402-9.
103. Martinez-Palones JM, Gil-Moreno A, Perez-Benavente MA, Garcia-Gimenez A, Xercavins J. Umbilical metastasis after laparoscopic retroperitoneal paraaortic lymphadenectomy for cervical cancer: a true port-site metastasis?. *Gynecol Oncol* 2005; 97(1):292-5.
104. Reymond MA; Wittekind C, Jung A, Hohenberger W, Kirchner T, Kockerling F. The incidence of port-site metastases might be reduced. *Surg Endosc* 1997; 11:902-6.
105. Ramirez Pt, Wolf JK, Levenback C. Laparoscopic port-site metastases: etiology and prevention. *Gynecol Oncol* 2003; 91:178-189.
106. Franklin ME, Rosenthal D, Abrego-Medina D, Dorman JP, Glass JL, Norem R, Diaz A. Prospective comparison of open vs. laparoscopic colon surgery or carcinoma:

- five-years results. *Dis Colon Rectum* 1996; 39:S35-46.
107. Fleshman JW, Nelson H, Peters WR, Kim HC, Larach S, Boorse RR et al. Early results o laparoscopic surgery for colorectal cancer: retrospective analysis of 372 patients treated by Clinical Outcomes of Surgical Therapy Study Group. *Dis Colon Rectum* 1996; 39:S53-8.
 108. Milsom JW, Bohm B, Hammerhofer KA, Fazio V, Steiger E, Elson P. A prospective randomized trial comparing laparoscopic versus conventional techniques in colorectal cancer surgery: a preliminary report. *J Am Coll Surg* 1998; 187:46-55.
 109. Vukasin P, Ortega AE, Greene FL, Steele GD, Simons AJ, Anthone GJ, et al. Wound recurrence following laparoscopic colon cancer resection: results of American Society of Colon an Rectal Surgeons Laparoscopic Registry. *Dis Colon Rectum* 1996; 39:S20-3.
 110. Childers JM, Aqua KA, Surwit EA, Hallum AV, Hatch KD. Abdominal-wall tumor implantation after laparoscopy for malignant condition. *Obstet Gynecol* 1994; 84:765-9.
 111. Lundstedt C, Stridbeck H, Anderson R, Tranberg KG, Andren-Sandberg A. Tumor seeding occurring after fine needle biopsy of abdominal malignancies. *Acta Radiol* 1991; 32:518-20.
 112. Obermair A, Manolitsas TP, Leung Y, Hammond IG, McCartney AJ. Total laparoscopic hysterectomy for endometrial cancer: patterns of recurrence and survival. *Gynecol Oncol* 2004; 92:789-793.
 113. Sanjuan A, Hernandez S, Phaisa J, Ayuso JR, Torne A, Martinez Roman S, Lejarcegui JA, Ordi J, Vanrell JA. Port-site metastasis alter laparoscopic surgery for endometrial carcinoma: two case reports. *Gynecol Oncol* 2005; 96:539-42.
 114. Dobronte Z, Wittmann T, Karacsony G. Rapid development of malignant metastases in the abdominal wall after laparoscopy. *Endoscopy* 1978; 10:127-30.

115. Stockdale AD, Pocock TJ. Abdominal wall metastasis following laparoscopy: a case report. *Eur J Surg Oncol* 1985; 11:373-5.
116. Hsiu JG, Given FT, Kemp GM. Tumor implantation after diagnostic laparoscopic biopsy of serous ovarian tumors of low malignant potential. *Obstet Gynecol* 1986; 68:S90-93.
117. Miralles RM, Petit J, Gine L, Balaguero L. Metastatic cancer spread at the laparoscopic puncture site. Report of a case in a patient with carcinoma of the ovary. *Eur J Gynaecol Oncol* 1989; 10:442-4.
118. Maiman M, Seltzer V, Boyce J. Laparoscopic excision of ovarian neoplasms subsequently found to be malignant. *Obstet Gynecol* 1991; 77:563-5.
119. Gleeson NC, Nicosia SV, Mark JE, Hoffman MS, Cavanagh D. Abdominal wall metastases from ovarian cancer after laparoscopy. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:522-3.
120. Shepherd JH, Carter PG, Lowe DG. Wound recurrence by implantation of a borderline ovarian tumor following laparoscopic removal. *Br J Obstet Gynaecol* 1994; 101:265-6.
121. Nduka CC, Monson JR, Menzies-Gow N, Darzi A. Abdominal wall metastases following laparoscopy. *Br J Surg* 1994; 81:648-52.
122. Kruitwagen RF, Swinkels BM, Keyser KG, Doesburg WH, Schijf CP. Incidence and effect on survival of abdominal wall metastases at trocar or puncture sites following laparoscopy or paracentesis in women with ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1996; 60:233-7.
123. Lane G, Pfau SC. Ovarian cancer presenting in a laparoscopy scar and metastatic to the spleen. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103:386-7.
124. Gungor M, Cengiz B, Turan YH, Ortac F. Implantation metastasis of ovarian cancer after third-look laparoscopy. *J Pak Med Assoc* 1996; 45:111-2.

125. Chu HS, Jung NW, Kim JH, Huh J, Nam JH, Mok JE. Tumor implantation along abdominal trocar site after pelviscopic removal of malignant ovarian tumor – a case report. *J Korean Med Sci* 1996; 11:440-3.
126. Leminen A, Lehtovirta P. Spread of ovarian cancer after laparoscopic surgery: report of eight cases. *Gynecol Oncol* 1999; 75:387-90.
127. van Dam PA, DeCloedt J, Tjalma WA, Buytaert P, Becquart D, Vergote IB- Trocar implantation metastasis after laparoscopy in patients with advanced ovarian cancer: can the risk be reduced? *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181:536-41.
128. Hopkins MP, von Gruenigen V, Gaich S. Laparoscopic port-site implantation with ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182:735-6
129. Morice P, Viala J, Pautier P, Lhomme C, Duvillard P, Castaigne D. Port site metastasis after laparoscopic surgery for gynaecologic cancer. A report of six cases. *J Reprod Med* 2000; 45:837-40.
130. Lecuru F, Darai E, Robin F, Housset M, Durdux C, Taurelle R. Port site metastasis after laparoscopy for gynaecological cancer: report of two cases. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000; 79:1021-3.
131. Bacha EA, Barber W, Ratchaford W. Port-site metastases of adenocarcinoma of the fallopian tube after laparoscopically assisted vaginal hysterectomy and salpingo-oophorectomy. *Surg Endosc* 1996; 10:1102-3.
132. Kadar N. Port-site recurrences following laparoscopic operations for gynaecological malignancies. *Br J Obstet Gynaecol* 1997;104: 1308-13.
133. Wang PH, Yen MS, Yuan CC et al. Port-site metastasis after laparoscopic-assisted vaginal hysterectomy for endometrial cancer: possible mechanisms and prevention. *Gynecol Oncol* 1997; 66:151-5.
134. Muntz HG, Goff BA, Madsen BL, Yon JL. Port-site recurrence after laparoscopic surgery for endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol* 1999; 93:807-9.

135. Patsner B, Damien M. Umbilical metastases from a stage IB cervical cancer after laparoscopy: a case report. *Fertil Steril* 1992; 58:1248-9.
136. Naumann RW, Spencer S. an umbilical metastasis after laparoscopy for squamous cell carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1997; 64:507-9.
137. Wang PH, Yuan CC, Chao KC, Yen MS, Ng Ht, Chao HT. Squamous cell carcinoma of the cervix after laparoscopic surgery. A case report. *J Reprod Med* 1997; 42:801-4.
138. Lane G, Tay J. Port-site metastasis following laparoscopic lymphadenectomy for adenosquamous carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1999; 74:130-3.
139. Lavie O, Cross PA, Beller U, Dawlatly B, Lopes A, Monaghan JM. Laparoscopic port-site metastasis of an early stage adenocarcinoma of the cervix with negative lymph nodes. *Gynecol Oncol* 1999; 75:155-7.
140. Carvalho JP, Souen J, Pinotti JA. Trocar site metastasis after laparoscopic pelvic lymphadenectomy for cervical squamous cell carcinoma. *Int J Gynaecol Obstet* 1999; 67:111-2.
141. Kohlberger PD, Edwards L, Collins C, Milross C, Hacker NF. Laparoscopic port-site recurrence following surgery for a stage IB squamous cell carcinoma of the cervix with negative lymph nodes. *Gynecol Oncol* 2000; 79:324-6.
142. Gregor H, Sam CE, Reinthaller A, Joura EA. Port-site metastases after laparoscopic lymph node staging of cervical carcinoma. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 2001; 8:591-3.
143. Tjalma WA, Winter-Roach BA, Rowlands P, De Barros Lopes A. Port-site recurrence following laparoscopic surgery in cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2001; 11:409-12.
144. Agostini A, Cohen D, Cravello L, Bretelle F, Roger V, Blanc B. Port-site recurrence following para-aortic lymphadenectomy for squamous carcinoma of the cervix. *Eur*

- J Obstet Gynecol Reprod Biol 2001; 98:258-59.
145. Hayes AG, Berry AD. Cutaneous metastasis from squamous cell carcinoma of the cervix. *J Am Acad Dermatol* 1992; 26:846-850,
 146. Imachi M, Tsukamoto N, Kinoshita S, Nakano H. Skin metastasis from carcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 1993; 48:349-354.
 147. Cliby WA, Dodson MK, Podratz KC. Cervical cancer complicated by pregnancy: episiotomy site recurrences following vaginal delivery. *Obstet Gynecol* 1994; 84:179-182 .
 148. Amanie J, Pearcey RG, Honore L, Sloboda R. Metastatic adenocarcinoma of the cervix in a delivery-induced traumatic lower vaginal tear. *Gynecol Oncol* 2005; 96:857-9
 149. Copas PR, Spann CO, Thoms WW, Horowitz IR. Squamous cell carcinoma of the cervix metastatic to a drain site. *Gynecol Oncol* 1995; 56:102-4.
 150. Greenlee RM, Chervanek FA, Tovell HM. Incisional recurrence of a cervical carcinoma. *JAMA* 1981; 246:69-70.
 151. Cohn DE, Tamimi HK, Goff BA. Intraperitoneal spread of cervical carcinoma after laparoscopic lymphadenectomy. *Obstet Gynecol* 1997; 89:864.
 152. Lookingbill D, Spangler N, Sexton FM. Skin involvement as the presenting sign of internal carcinoma. A retrospective study of 7318 cancer patients. *J Am Acad Dermatol* 1990; 22:19-26.
 153. Touraud JP, Lentz N, Dutronc Y, Mercier E, Sagot P, Lambert D. Umbilical cutaneous metastasis (or sister Mary Joseph's nodule) disclosing an ovarian adenocarcinoma. *Gynecol Obstet Fertil* 2000; 28:719-21.
 154. Gabrielle R, Conte M, Egidi F, Borghese M. Umbilical metastasis: current viewpoint. *World J Surg Oncol* 2005; 3:13.
 155. Panaro F, Andorno E, Di Domenico S, Morelli N, Bottino G, Mondello R, et al.

Sister Joseph's nodule in a liver transplant recipient: Case report and mini-review of literatura. *World J Surg Oncol* 2005; 3:4.

156. Khalil AM, Chammas MF, Kaspar HJ, Shamseddine AI, Seoud MA. Case report: endometrial cancer implanting in the laparotomy scar. *Eur J Gynaecol Oncol* 1998; 19:408-9.
157. Joshi SC, Sharma DN, Khurana N, Mohanta PK, Bahadur AK. Endometrial carcinoma with recurrence in the incisional scar: a case report. *Int J Gynecol Cancer* 2003; 13:901-3.
158. Macias V, Baiotto B, Pardo J, Munoz F, Gabriele P. Laparotomy wound recurrence of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 2003; 91:429-34.
159. Brasanac D, Boricic I, Todorovic V, Basta-Jovanovic G. Umbilical metastasis (Sister Joseph's nodule) as a first sign of a disseminated ovarian carcinoma: comparative immunohistochemical análisis of primary tumor and its metastases. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15:377-81.
160. Murthy SM, Goldschmidt RA, Rao LN, Ammirati M, Buchmann T, Scanlon EF. The influence of surgical trauma on experimental metastasis. *Cancer* 1989; 64: 2035-44.
161. Targarona EM, Martinez J, Nadal A, Balague C, Carsdesa A, Pascual S, Trias M. Cancer dissemination during laparoscopic surgery: tubes, gas, and cells. *World J Surg* 1998; 22:55-61.
162. Martinez J, Targarona EM, Balague C, Pera M, Trias M. Port-site metastasis. An unresolved problem in laparoscopic surgery: a review. *Int Surg* 1995; 80:315-21.
163. Gutman M, Fidler IJ. Biology of human colon cancer metastasis. *World J Surg* 1995; 19:226-34.
164. Hewett PJ, Thomas WM, King G, Eaton M. Intraperitoneal cell movement during abdominal carbon dioxide insufflation and laparoscopy: an in vivo model. *Dis Colon*

Rectum 1996; 39:S62-66.

165. Nduka CC, Monson JR, Menzies-Gow N, Darzi A. Abdominal wall metastases following laparoscopy. *Br J Surg* 1994; 81:648-52.
166. Cirocco VC, Schwartzman A, Golub RW. Abdominal wall recurrence after laparoscopic colectomy for colon cancer. *Surgery* 1994; 116:842-6.
167. Jorgensen JO, McCall JL, Morris DL. Port site seeding after laparoscopic ultrasonographic staging of pancreatic carcinoma. *Surgery* 1995; 117:118-9.
168. Gupta A, Watson DI, Ellis T, Jamieson GG. Tumor implantation following laparoscopy using different insufflation gases. *ANZ J Surg* 2002; 72:254-7.
169. Neuhaus SJ, Ellis T, Rofe AM, Pike GK, Jamieson GG, Watson DI. Tumor implantation following laparoscopy using different insufflation gases. *Surg Endosc* 1998; 12:1300-2.
170. Jones DB, Guo LW, Reinhard MK, Soper NJ, Philpott GW, Connett J, Fleshman JW. Impact of pneumoperitoneum on trocar site implantation of colon cancer in hamster model. *Dis Colon Rectum* 1995; 38:1182-8.
171. Bouvy ND, Marquet RL, Jeekel H, Bonjer HJ. Impact of gas-less laparoscopy and laparotomy on peritoneal tumor growth and abdominal wall metastases. *Ann Surg* 1996; 224:694-701.
172. Jacobi CA, Wenger FA, Ordemann J, Gutt C, Sabat R, Muller JM. Experimental study of the effect of intra-abdominal pressure during laparoscopy on tumor growth and port site metastasis. *Br J Surg* 1998; 85:1419-22.
173. Gutt CN, Kim ZG, Hollander D, Bruttel T, Lorenz M. CO2 environment influences the growth of cultured human cancer cells dependent on insufflation pressure. *Surg Endosc* 2001; 15:314-8.
174. Iwanaka T, Arya G, Ziegler MM. Mechanism and prevention of port-site tumor recurrence after laparoscopy in a murine model. *J Pediatr Surg* 1998; 33:457-61.

175. Lecuru F, Agostini A, Camatte S, Robin F, Aggerbeck M, Jais JP, Vilde F, Taurelle R. Impact of pneumoperitoneum on tumor growth. *Surg Endosc* 2002; 16:1170-4.
176. Agostini A, Robin F, Aggerbeck M, Hais JP, Blanc B, Lecuru F. Influence of peritoneal factors on port-site metastases in a xenograft ovarian cancer model. *BJOG* 2001; 108:809-12.
177. Schilling MK, Redaelli C, Krahenbuhl L, Signer C, Buchler MW. Splanchnic microcirculatory changes during CO2 laparoscopy. *J Am Coll Surg* 1997; 184:378-82.
178. Hirabayashi Y, Yamaguchi K, Shiraishi N, Adachi Y, Kitamura H, Kitano S. Development of port-site metastasis after pneumoperitoneum. *Surg Endosc* 2002; 16:864-8.
179. Allardyce RA, Morreau P, Bagshaw PF. Operative factors affecting tumor cell distribution following laparoscopic colectomy in a porcine model. *Dis Colon Rectum* 1997; 40:939-45.
180. Mathew G, Watson DI, Ellis T, De Young N, Rote AM, Jamieson GG. The effect of laparoscopy on the movement of tumor cells and metastasis to surgical wounds. *Surg Endosc* 1997; 11:1163-6.
181. Whelan RL, Sellers GJ, Allendorf JD, Laird D, Bessler MD, Nowygrod R, Treat MR. Trocar site recurrence is unlikely to result from aerosolization of tumor cells. *Dis Colon Rectum* 1996; 39:S7-13.
182. Sellers GJ, Whelan RI, Allendorf JD, Gleason NR, Donahue J, Laird D, Bessler MD, Treat MR. An in vitro model fails to demonstrate aerosolization of tumor cells. *Surg Endosc* 1998; 12:436-9.
183. Ikramuddin S, Lucus J, Ellison EC, Schirmer WJ, Melvin WS. Detection of aerosolized cells during carbon dioxide laparoscopy. *J Gastrointest Surg* 1998; 2:580-84.

184. Bouvy ND, Marquet RL, Hamming JF, Jeekei J, Bonjer HJ. Laparoscopic surgery in the rat: beneficial effect on body weight and tumor take. *Surg Endosc* 1996; 10:490-4.
185. Neuhaus SJ, Watson DI, Ellis T, Rofe AM, Jamieson GG. The effect of immune enhancement and suppression on the development of laparoscopic port site metastases. *Surg Endosc* 2000; 14:439-43.
186. Cho JM, LaPorta AJ, Clark JR, Schofield MJ, Hammond S, Mallory PL. Response of serum cytokines in patients undergoing laparoscopic colectomy. *Surg Endosc* 1994; 8:1380-4.
187. Jacobi CA, Wenger F, Sabat R, Volk T, Ordemann J, Muller JM. The impact of laparoscopy with carbon dioxide versus helium on immunologic function and tumor growth in a rat model. *Dig Surg* 1998; 15:110-6.
188. Kuntz C, Wunsch A, Bodeker C, Bay F, Rosch R, Windeler J, Herfarth C. Effect of pressure and gas type on intraabdominal subcutaneous and blood pH in laparoscopy. *Surg Endosc* 2000; 14:367-71.
189. Yamaguchi K, Hirabayashi Y, Suematsu T, Shiraishi N, Adachi Y, Kitano S. Hyaluronic acid secretion during carbon dioxide pneumoperitoneum and its association with port-site metastasis in a murine model. *Surg Endosc* 2001; 15:59-62.
190. Wexner SD, Cohen SM. Port site metastases after laparoscopic colo-rectal surgery for cure of malignancy. *Brit J Surg* 1995; 82:295-8.
191. Lord SA, Larach SW, Ferrara A, Williamson PR, Lago CP, Lube MW. Laparoscopic resections for colorectal carcinoma; a three-year experience. *Dis Colon Rectum* 1996; 39:148-154.
192. Lee SW, Southall J, Allendorf J, Bessler M, Whelan RL. Traumatic handling of the tumor independent of pneumoperitoneum increases port site implantation rate of colon cancer in a murine model. *Surg Endosc* 1998; 12:828-34.

193. Tseng LN, Berends FJ, Wittich P, Bouvy ND, Marquet RL, Kazemier G, Bonjer HJ. Port-site metastases: impact of local tissue trauma and gas leakage. *Surg Endosc* 1998; 12:1377-80.
194. Agostini A, Robin F, Jais JP, Aggerbeck M, Vilde F, Blanc B, Lecuru F. Peritoneal closure reduces port site metastases: results of an experiment in a rat ovarian cancer model. *Surg endosc* 2002; 16:289-91.
195. Jacobi CA, Ordemann J, Bohm B, Zieren HU, Sabat R, Muller JM. Inhibition of peritoneal tumor cell growth and implantation in laparoscopic surgery in a rat model. *Am J Surg* 1997; 174:359-63.
196. Sugarbaker PH, Cunliffe WJ, Belliveau J, de Bruijn EA, Grves T, Mullins RE, Schlag P. Rationale for integrating early postoperative intraperitoneal chemotherapy into the surgical treatment of gastrointestinal cancer. *Semin Oncol* 1989; 16:S83-87.
197. Eshraghi N, Swanstrom LL, Bax T, Jobe B, Horvath K, Sheppard B, Deveney C. Topical treatments of laparoscopic port sites can decrease the incidence of incision metastasis. *Surg Endosc* 1999; 13:1121-4.
198. Neuhaus SJ, Watson DI, Ellis T, Rofe AM, Jamieson GG. Influence of cytotoxic agents on intraperitoneal tumor implantation after laparoscopy. *Dis Colon Rectum* 1999; 42:10-15.
199. Ramirez PT, Frumovitz M, Wolf JK, Levenback C. Laparoscopic port-site metastasis in patients with gynecological malignancies. *Int J Gynecol Cancer* 2004; 14:1070-77.
200. Folkman J: Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl Med* 1971; 285: 1182-1186.
201. Kim KJ, Li B, Winer X, Armanini M, Gillett N, Phillips HS, Ferrara N: Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumor growth in-vivo. *Nature* 1993; 362: 841-844.

202. Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D: Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature* 1989; 338: 58-61.
203. Yabushita H, Noguchi M, Kinoshita S, Kishida T, Sawaguchi K, Noguchi M. Angiostatin expression in endometrial cancer. *Oncol Rep* 2002; 9:1193-6.
204. Shaarawy M, El-Sarkawy SA. Biomarkers of intrinsic angiogenic and anti-angiogenic activity in patients with endometrial hyperplasia and endometrial cancer. *Acta Oncol* 2001; 40:513-8.
205. Braud A, Gonzague L, Bertucci F, et al. Retinoids, cisplatin and interferon-alpha in recurrent or metastatic cervical squamous cell carcinoma: clinical results of 2 phase II trials. *Eur Cytokine Netw* 2002; 13:115-20.
206. de Gruijl TD, Bontkes HJ, van den Muysenberg AJ, et al. Differences in cytokine mRNA profiles between premalignant and malignant lesions of the uterine cervix. *Eur J Cancer* 1999; 35:490-7.
207. Sakata K, Shigemasa K, Nagai N, Ohama K. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-9, MT1-MMP) and their inhibitors (TIMP-1, TIMP-2) in common epithelial tumors of the ovary. *Int J Oncol* 2000; 17:673-81.
208. Hu W, Verschraegen C, Wu W, et al. Activity of ALRT 1550, a new retinoid with interferon-gamma on ovarian cancer cell lines. *Int J Gynecol Cancer* 2002; 12:202-7.
209. O'Reilly MS, Holmgren L, Chen CC, Folkman J. Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumors in mice. *Nature Med* 1996; 2:689-692.
210. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukai N, Vasios G, Lane WS, et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 1997; 88:277-285.
211. D'Amato RJ, Loughan MS, Flynn E, Folkman J. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:4082-85.
212. Feng D, Nagy JA, Hipp J, Dvorak HF, Dvorak AM. Vesiculovacuolar organelles and

- the regulation of venule permeability to macromolecules by vascular permeability factor, histamine and serotonin. *J Exp Med* 1996; 183:1981-86.
213. Dvorak HF, Orenstein NS, Carvalho AC, et al. Induction of a fibrin-gel investment and early event in line 10 hepatocarcinoma growth mediated by tumor-secreted products. *J Immunol* 1979; 122:166-174.
 214. Gordon JD, Mesiano S, Zaloudek CJ, Jaffe RB. Vascular endothelial growth factor localization in human ovary and Fallopian tubes: possible role in reproductive function and ovarian cyst formation. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 83:353-9.
 215. Klagsbrun M, D'Amore PA. Vascular endothelial growth factor and its receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 1996; 1:259-270.
 216. Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996; 86:353-64.
 217. Damarun KM, Volpert OV, Tainsky MA, Bouck N. Control of angiogenesis in fibroblasts by p53 regulation of thrombospondin 1. *Science* 1994; 265:1582-84.
 218. Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, Bartunkova S, Wiegand SJ, Radziejewski C, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science* 1997; 277:55-60.
 219. Abulafia O, Triest WE, Sherer DM. Angiogenesis in malignancies of the female genital tract. *Gynecol Oncol* 1999; 72:220-231.
 220. Hawighorst H, Knapstein P, Weikel W, et al. Angiogenesis of uterine cervical carcinoma: characterization by pharmacokinetic magnetic resonance parameters and histological microvessel density with correlation to lymphatic involvement, *Cancer Res* 1997; 57:4777-86.
 221. Baccala A, Zhong H, Clift S et al. Serum vascular endothelial growth factor is a candidate biomarker of metastatic tumor response to ex vivo gene therapy of renal cell cancer. *Urology* 1998; 51:327-32.

222. Miyake H, Hara I, Yamanaka K, Gohji K, Arakawa S, Kamidono S. Elevation of serum level of vascular endothelial growth factor as a new predictor of recurrence and disease progression in patients with superficial urothelial cancer. *Urology* 1999; 53:302-7.
223. Salven P, Ruotsalainen T, Mattson K, Joensuu H. High pre-treatment serum level of vascular endothelial growth factor (VEGF) is associated with poor outcome in small-cell lung cancer. *Int J Cancer* 1998; 79:144-6.
224. Tempfer C, Obermair A, Hefler L, Haeusler G, Gitsch G, Kainz C. Vascular endothelial growth factor serum concentrations in ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 1998; 92:360-3.
225. Chopra V, Dinh T, Hannigan E. Serum levels of interleukins, growth factors and angiogenin in patients with endometrial cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 1997; 123:167-72.
226. Chopra V, Dinh T, Hannigan E. Circulating serum levels of cytokines and angiogenic factors in patients with cervical cancer. *Cancer Invest* 1998; 16:152-9.
227. Shimoyama S, Gansauge J, Gansauge S, Negri G, Oohara T, Beger H. Increased angiogenin expression in pancreatic cancer is related to cancer aggressiveness. *Cancer Res* 1996; 56:2703-6.
228. Wiggins DL, Granai CO, Steinhoff MM, Calabresi P. Tumor angiogenesis as a prognostic factor in cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 1995; 56:353-6.
229. Rutgers JL, Mattox TF, Vargas MP. Angiogenesis in uterine cervical squamous cell carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 1995; 14:114-8.
230. Kainz C, Speiser P, Wanner C, Obermaier A, Tempfer C, Sliutz G, Reinhaller A, Breitenacker G. Prognostic value of tumor microvessel density in cancer of the uterine cervix stage IB to IIB. *Anticancer Res* 1995; 15:1549-51.
231. Schlenger K, Höckel M, Mitze M, Schäffer U, Weikel W, Knapstein PG, Lambert

- A. Tumor vascularity: A novel prognostic factor in advanced cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 1995; 59:57-66.
232. Dellas A, Mogh H, Schultheiss E, Feichter G, Almendral A, Gudat F, Torhorst J. Angiogenesis in cervical neoplasia: microvessel quantitation in precancerous lesions and invasive carcinomas with clinicopathological correlations. *Gynecol Oncol* 1997; 67:27-33.
233. Dinh TV, Hannigan EV, Smith ER, Hove MJ, Chopra V, To T. Tumor angiogenesis as a predictor of recurrence in stage IB squamous cell carcinoma of the cervix. *Obstet Gynecol* 1996; 87:751-54.
234. Van Trappen PO, Ryan A, Carroll M, et al. A model for co-expression pattern analysis of genes implicated in angiogenesis and tumour cell invasion in cervical cancer. *Br J Cancer* 2002; 87:537-44.
235. Parolini S, Rosa D, Flagiello D, et al. Immunocytochemical localization of plasminogen activators in carcinomas in the cervix and vulva. *Int J Tissue React* 1994; 16:251-8.
236. Fujimoto J, Sakaguchi H, Aoki I, Tamaya T. Clinical implications of expression of interleukin 8 related to angiogenesis in uterine cervical cancers. *Cancer Res* 2000; 60:2632-35.
237. Lebrecht A, Ludwig E, Huber A, et al. Serum vascular endothelial growth factor and serum leptin in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2002; 85:32-5.
238. Bodner-Adler B, Hefler L, Bodner K, et al. Serum levels of angiogenin (ANG) in invasive cervical cancer and in cervical intraepithelial neoplasia (CIN). *Anticancer Res* 2001; 21:809-12.
239. Abulafia O, Triest WE, Sherer DM, Hansen CC, Ghezzi F. Angiogenesis in endothelial hyperplasia and stage I endometrial carcinoma. *Obstet Gynecol* 1995; 86:479-85.

240. Kaku T, Kamura T, Kinukawa N, Kobayashi H, Tanizawa O, Matsumoto K, et al. Angiogenesis in endometrial carcinoma. *Cancer* 1997; 80:741-47.
241. Jikihara H, Terada N, Yamamoto R, Nishikawa Y, Tanizawa O, et al. Inhibitory effect of medroxyprogesterone acetate on angiogenesis induced by human endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167:207-11.
242. Paley PJ, Staskus KA, Gebhart K, Mohanraj D, Twiggs, Carson LF. Vascular endothelial growth factor expression in early stage ovarian carcinoma. *Cancer* 1997; 80:98-106.
243. Hollingsworth HC, Kohn EC, Steinberg SM, Rothenberg ML, Merino MJ. Tumor angiogenesis in advanced ovarian carcinoma. *Am J Pathol* 1995; 147:33-41.
244. Abulafia O, Triest WE, Sherer DM. Angiogenesis in primary and metastatic epithelial ovarian carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177:541-47.
245. Kodama J, Hashimoto I, Seki N, et al. Thrombospondin-I and -2 messenger RNA expression in invasive cervical cancer: correlation with angiogenesis and prognosis. *Clin Cancer Res* 2001; 7:2826-31
246. Golberg I, Davidson B, Lerner-Geva L, et al. Expression of extracellular matrix proteins in cervical squamous cell carcinoma – a clinicopathological study. *J Clin Pathol* 1998; 51:781-5.
247. Di Roberto P, Benedetti Panici P, Scambia G, et al. Early hemostatic disorders in patients with gynaecologic tumors. *Eur J Gynecol Oncol* 1986; 7: 109-112.
248. Obermair A, Bancher-Todesca D, Bilgi S, Kaider A, Kohlberger P. Correlation of vascular endothelial growth factor expression and microvessel density in cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst.* 1997; 89:1212-7.
249. Dobbs S, Hewett P, Johnson I, Carmichael J, Murray J. Angiogenesis is associated with vascular endothelial growth factor expression in cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer* 1997; 76:1410-15.

250. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Cartwright T, et al. Bevacizumab (a monoclonal antibody to vascular endothelial growth factor) prolongs survival in first-line colorectal cancer (CRC): results of a phase III trial of bevacizumab in combination with bolus IFL (irinotecan, 5-fluorouracil, leucovorin) as first-line therapy in subjects with metastatic CRC. ASCO Abstracts 2003. Abstract 3646.
251. DeVore R, Fehrenbacher L, Herbst R, et al. A randomized phase II trial comparing Rhumab VEGF (recombinant humanized monoclonal antibody to vascular endothelial cell growth factor) plus carboplatin/paclitaxel (CP) to CP alone in patients with stage IIIB/IV NSCLC. ASCO Abstracts 200. Abstract 1896.
252. Johnson DH, DeVore R, Kabbinavar F, Herbst R, Holmgren E, Novotny W. Carboplatin (C) + paclitaxel (T) + RhuMab-VEGF (AVF) may prolong survival in advanced non-squamous lung cancer. ASCO Abstracts 2001. Abstract 1256.
253. Fong AT, Shawver LK, Sun L, et al. SU5416 is a potent and selective inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor (Flk-1/KDR) that inhibits tyrosine kinase catalysis tumor vascularization, and growth of multiple tumor type. *Cancer Res* 1999; 59:99-106.
254. Rosen L, Mulay M, Long J, et al. Phase I trial of SU011248, a novel tyrosine kinase inhibitor in advanced solid tumors. ASCO Abstracts 2003. Abstract 950.
255. Drevs J, Hofmann I, Hugenschmidt H, et al. Effects of PTK787/ZK 222584, a specific inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases, on primary tumor, metastasis, vessel density, and blood flow in a murine renal cell carcinoma model. *Cancer Res* 2000; 60:4819-24.
256. Ingber D, Fujita T, Kishimoto S, et al. Synthetic analogues of fumagillin that inhibit angiogenesis and suppress tumour growth. *Nature* 1990; 348:555-7.
257. Chattopadhyay N, Chatterjee A. Studies on the expression of alpha(v)beta3 integrin receptors in non-malignant human cervical tumor tissues. *J Exp Clin Cancer Res*

2001; 20:269-75.

258. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent?. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82:4-6.
259. Dormond O, Foletti A, Paroz C, Ruegg C. NSAIDs inhibit alpha V beta 3 integrin-mediated and Cdc42/Rac-dependent endothelial-cell spreading, migration and angiogenesis. *Nat Med* 2001;7:1041-47.
260. Kudelka AP, Levy T, Verschraegen CF, Edwards CL, Piamsomboon S, Termrungruanglert W, Freedman RS, Kaplan AL, et al. A phase I study of TNP-470 administered to patients with advanced squamous cell cancer of the cervix. *Clin Cancer Res* 1997; 3:1501-1505.