UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

2. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Postupy redukující radikalitu u prekanceróz a časných invazivních karcinomů děložního hrdla

Disertační práce

MUDr. Helena Robová

školitel: Doc.MUDr. Lukáš Rob, CSc,

Praha, 2007

Postgraduální doktorské studium biomedicíny
při UK a AV ČR

Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta v Praze

Obor experimentální chirurgie

Předseda oborové rady:
prof. MUDr. Jaroslav Živný, DrSc.

Pracoviště:
Gynekologicko-porodnická klinika,
Univerzita Karlova v Praze, 2. LF a FN v Motole
Přednosta: doc. MUDr. Lukáš Rob, CSc.

OBSAH

1. Úvod 4

2. Cíle práce 5

2.1. Prekancerózy děložního hrdla a těhotenství 5

2.2. Postupy redukující radikalitu u fertilitu zachovávajících operací u časných invazivních karcinomů děložního hrdla 5

3. Prekancerózy děložního hrdla a těhotenství 6

3.1. Přehled dané problematiky 6

3.2. Metody 6

3.3. Výsledky 8

3.4. Diskuse 12

3.5. Závěr 13

4. Postupy redukující radikalitu u fertilitu zachovávajících operací u časných invazivních karcinomů děložního hrdla 15

4.1. Přehled dané problematiky 15

4.2. Metody 20

4.3. Výsledky 29

4.3.1. Riziko postižení parametrií, sentinelových uzlin a pánevních uzlin 29

4.3.2. Konzervativní, fertilitu zachovávající operace 34

4.4. Diskuse 37

4.5. Závěr 42

5. Souhrn 43

6. Summary 46

7. Seznam použité literatury 49

8. Seznam publikací, prezentací se vztahem k tématu práce 55

9. Příloha – publikace 57

1. Úvod

V posledních 20 letech se v České republice výrazně zvyšuje věk prvorodiček a současně stále více žen odkládá těhotenství po třicátém roce života. To vede k nárůstu počtu žen, u nichž diagnostikujeme v těhotenství těžký stupeň squamózní intraepiteliální léze (HG SIL) nebo mikroinvazivní karcinom (MiCa) děložního hrdla. Stejně tak narůstá skupina žen s diagnostikovaným invazivním nádorem děložního hrdla, které ještě nerodily nebo plánují další těhotenství.

První část práce se zabývá možnostmi využití méně radikálních postupů a vyhodnocuje rizika konzervativních, observačních postupů v těhotenství u žen s těžkými prekancerózami a riziko konizace v těhotenství u nálezů podezřelých z počínající invaze. Druhá část práce vyhodnocuje experimentální postup méně radikálních operací prováděných u invazivních karcinomů děložního hrdla jejichž cílem je zachovat fertilitu. Při nálezu karcinomu děložního hrdla stadia IA2 a IB se v 90. letech stala standardem fertilitu zachovávajících operací laparoskopická lymfadenektomie s radikální trachelektomií. Experimentální postup méně radikálních operací je založen na laparoskopické identifikaci sentinelových uzlin kombinací patentové modři a radiokoloidu technetia a na následném peroperačním vyšetření sentinelových uzlin, laparoskopické identifikaci eferentních modrých lymfatických kanálů (trunků), jejich exstirpaci v mediální části paracervixu a kompletní pánevní laparoskopické lymfadenektomii. U žen s negativními uzlinami je ve druhé době (za 6-8 dnů) provedena fertilitu zachovávající operace, kterou je ve stadiu IA2 rekonizace nebo ve stadiu IB1 trachelektomie.

Práce je částí výstupů grantových projektů IGA MZ ČR – 7548-3: Vztah HPV k anogenitálním nádorům, řešitel E. Hamšíková, spoluřešitel H. Robová a projektu IGA MZ ČR – 8434-3: Význam předoperačních rizikových faktorů, pooperačního hodnocení a ultramikrostagingu sentinelových lymfatických uzlin u časných stadií karcinomů děložního hrdla a vulvy, řešitel L. Rob, spoluředitel H. Robová. Biopsie (punch a konizace) v těhotenství byly prováděny po písemném souhlasu žen s chirurgickým zákrokem. Experimentální protokol méně radikálních operací LAP I – simplexní trachelektomie, byl schválen etickou komisí FN Motol jako nový léčebný postup v lednu 1999. Aktualizován byl s nově schváleným LAP III protokolem (neoadjuvantní chemoterapie a konzervativní fertilitu zachovávající postupy u invazivních nádorů děložního hrdla) vědeckou radou FN Motol v lednu 2005.

2. Cíle práce

2.1. Prekancerózy a těhotenství

Vyhodnotit rizika konzervativních postupů u těžkých prekanceróz diagnostikovaných v průběhu těhotenství

Vyhodnotit riziko biopsií u prekanceróz a vyhodnotit rizika experimentální techniky konizací provedených v průběhu těhotenství u nálezů podezřelých z počínající invaze

Vyhodnotit regrese či riziko progrese u nálezů těžkých prekanceróz v poporodním období

2.2. Postupy redukující radikalitu u fertilitu zachovávajících operací u časných invazivních karcinomů děložního hrdla

Vyhodnotit vztah mezi rizikem metastatického postižení sentinelových uzlin a rizikem metastatického postižení mediální části parametrií (paracervixu)

Vypracovat experimentální postup pro řešení konzervativních – radikalitu redukující, fertilitu zachovávajících operací u časných stadií invazivních karcinomů děložního hrdla

Vyhodnotit vlastní experimentální postup radikalitu redukujících, fertilitu zachovávajících operací

3. Prekancerózy a těhotenství

3.1. Přehled dané problematiky

V průběhu těhotenství zjišťujeme abnormální cytologické a kolposkopické nálezy u 3 až 5 % žen. HG SIL léze je přítomná v méně než v 1 %, což je stejná incidence jako ve věkové skupině netěhotných žen mezi 25. a 35. rokem života (23). Pokud žena neměla v posledních šesti měsících zcela normální cytologický nález tak se cytologické vyšetření dnes většinou provádí v průběhu prvního trimestru. Základní kolposkopie je součástí komplexního gynekologického vyšetření a měla by být v prvním trimestru provedena u každé ženy. Technika kolposkopie je v prvním trimestru stejná jako u netěhotné ženy. Interpretace nálezů je však po 8. týdnu těhotenství obtížnější, a to zejména pro změny související s těhotenstvím, které se stupňují s délkou těhotenství. Výraznější deciduální změny, zvýšená denzita epitelu a tím výraznější bělost po kyselině octové jsou úskalí, která posunují hodnocení abnormálních nálezů v těhotenství na úroveň expertní kolposkopie (6,30).

Zásadní odlišnost mezi netěhotnou a těhotnou ženou je v řešení těžkých prekanceróz (HG lézí). U netěhotné ženy prebioptický odhad HG léze indikuje některou z excizních metod: konizaci kličkou (LETZ), konizaci jehlou či konizaci studeným nožem. V těhotenství je nutno vyloučit invazivní karcinom a poté se preferuje observační postup (4,16,54). Konizace jsou u těhotných vyhrazeny pro nálezy, které jsou suspektní z počínající invaze (26). V prospektivně prováděné práci jsme se zaměřili na vyhodnocení rizika konzervativních observačních postupů u těžkých prekanceróz diagnostikovaných v průběhu těhotenství, na vyhodnocení rizika experimentální techniky konizací provedených v průběhu těhotenství u nálezů podezřelých z počínající invaze a vyhodnocení rizika regrese či progrese nálezů v poporodním období až dvou letech po porodu. V dostupné literatuře nejsou o této problematice konzistentní data.

3.2. Metody

Prospektivní studie byla provedena od září 1997 do prosince 2006. Do studie byly zařazeny těhotné ženy do 20. týdne gravidity odeslané na naší kolposkopickou ambulanci s abnormálním prebioptickým nálezem (cytologie - CYTO, kolposkopie - KOLPO) na děložním hrdle. V případě, že některá z prebioptických metod signalizovala HG lézi a žena souhlasila se zařazením do studie a biopsií suspektní léze, byla ji provedena

kontrolní cytologie, HPV HR testace, expertní kolposkopie a punch biopsie z kolposkopicky nejsuspektnějších míst (1-3 biopsie) nebo u podezření z mikroinvaze konizace. Biopsie byla provedena u 130 žen. Cervikální stěry pro detekci HPV DNA jsme odebírali kartáčkem před odběrem vzorku na cytologické vyšetření (před aplikací kyseliny octové) a přenesli je do zkumavky s 5 ml transportního média PreservCyt (Digene). Vzorky jsme skladovali při +4°C a do 48 hodin po odběru jsme je zpracovali ve spolupracující laboratoři. Zpracování cervikálních stěrů pro detekci HPV metodou Hybrid Capture II (HC II, DIGENE). Punch biopsie byly prováděny pod kolposkopickou kontrolou z nejsuspektnějšího místa Schumacherovými bioptickými kleštěmi s excizní plochou 7x5mm. Byly prováděny bez použití vasokonstrikčních látek i bez použití lokálních anestetik. Po biopsii byla na cervix přiložena mulová tamponáda, kterou si žena odstranila sama po 4 až 6 hodinách. V případě, že některá z prebioptických metod signalizovala podezření na mikroinvazivní karcinom bylo ženě po poučení doporučeno provedení konizace. Konizace byly prováděny v celkové anestesii mezi 13 až 23 týdnem těhotenství. Po desinfekci a fixaci cervixu byly u čísla 3 a 9 založeny vicrylové hemostatické stehy na descendentní větve uterinní arterie. Děložní hrdlo bylo následně intracervikálně infiltrováno 4 ml terlipressinu (Remestyp) do každého kvadrantu 1 ml roztoku. Po 3 až 5 minutých od infiltrace byla konizace provedena technikou jehlové konizace nebo LETZ. Spodina defektu byla po exstirpaci koagulována. Mulová vaginální tamponáda byla odstraněna po 12 hodinách. Během výkonu byla podána infúze 500 ml fyziologického roztoku s 2g MgSO4 rychlostí 250ml/hodinu a po dobu následné hospitalizace bylo podáno Mg lacticum perorálně 4-7 dnů (průměr 5,1 dne). Souhlas se studií předpokládal u všech žen kontroly minimálně 2 roky po porodu. Konzervativně řešené ženy byly kontrolovány mezi 22.-24. týdnem těhotenství – kontrola 1 (KOLPO) a dále mezi 32.-34. týdnem těhotenství – kontrola 2 (KOLPO + CYTO v případech známek progrese léze). Za dva až tři měsíce po porodu byla prováděna kontrola 3 (KOLPO + CYTO + HPV – HR) a následující 2 roky v intervalu 4 měsíců (KOLPO + CYTO). Při kontrole po dvou letech byla provedena KOLPO + CYTO, včetně HPV HR testace. Pro statistickou analýzu rozdílů mezi jednotlivými skupinami jsme použili dvoustranný Fisherův exaktní test. Citlivost, specificitu, pozitivní prediktivní hodnotu (PPV) a negativní prediktivní hodnotu (NPV) jsme vypočítali pomocí 2x2 kontingenčních tabulek s použitím počítačového programu GraphPad Instat, verze 3.00. Míru korelace diagnostických metod jsme provedli výpočtem korelačního koeficientu Kappa.

3.3. Výsledky

Kriteria studie splňovalo 130 žen u kterých cytologie nebo kolposkopie signalizovala těžkou lézi. Tab. 1 rozděluje ženy dle výsledku biopsií. Biopsie v jednom případě potvrdila invazivní adenokarcinom a v 20 případech méně závažnou lézi, lehký stupeň squamózní intraepiteliální léze (LG SIL). Žena s invazivním karcinomem byla ze studie vyřazena. Z 20 žen s LG SIL bylo 13 (65%) HPV HR pozitivních (Tab. 1). Tato skupina byla dispenzarizována a sledována jako LG léze. Do dvou let po porodu nález regredoval u 12 žen (60%), u šesti (30%) nález perzistoval a ve dvou případech (10%) byla do dvou let diagnostikována HG léze. U žádné ženy z této skupiny nález neprogredoval do mikrokarcinomu. V těhotenství byla u 103 žen provedena jedna až tři kolposkopicky cílené punch biopsie, celkem 185 biopsií. V žádném případě jsme jsme nezaznamenali krvácení, které by vyžadovalo následný chirurgický zákrok.

Tab. 1. Biopsie celkem 130 žen

Histologie	Počet žen (%)	HPV pozitivita (%)
Adenokarcinom	1 (0,8 %)	1 (100,0 %)
LG SIL	20 (15,4 %)	13 (65,0 %)
HG SIL (dispenzarizace)	**82 (63,0 %)**	**77 (93,9 %)**
HG SIL nelze vyloučit MICa (konizace)	**27 (20,8 %)**	**26 (96,3 %)**

U 82 žen byla HG SIL histologicky potvrzena do 20. týdne těhotenství punch biopsií a dále byly dle protokolu sledovány. HPV – HR pozitivitu jsme prokázali u 77 žen (93,9 %). Při kontrole 2 (31.-33. týden) byl nález označen jako progrese ve 3 případech (3,7 %), nález byl kolposkopicky hodnocen jako suspektní mikroinvaze ve dvou případech a cytologicky byl nález hodnocen jako progrese – suspektní karcinom ve dvou případech. Pouze v jednom případě byla shoda kolposkopie a cytologie. Toto těhotenství bylo plánovaně ukončeno císařským řezem v 37. týdnu těhotenství, konizace 6. den po porodu prokázala mikroinvazivní karcinom stadia IA1. U dalších dvou žen, kde nebyla shoda kolposkopie a cytologie, byly konizace provedeny v odstupu 7 dnů (IA1 –

mikrokarcinom) a 21 dnů po porodu (CIS bez prokazatelné invaze). V tab. 2 jsou shrnuty výsledky celého souboru HG lézí s dobou sledování 24 měsíců po porodu.

Tab. 2. Biopsie - HG SIL bez léčby, dispenzarozované

Regrese	**Počet žen**	**%**
Normální nález (follow up)	18	22,0
LG SIL (follow up)	6	7,3
LG SIL (konizace)	17	20,7
Celkem	41	50,0
Bez regrese	**Počet žen**	**%**
HG SIL + 1x AIS (konizace)	34	41,5
MiCa Ia1 (konizace)	7	8,5
Celkem	41	50

Bez regrese tedy stacionární nebo nález progredoval v průběhu těhotenství a po porodu u 41 žen (50,0 %). Konizace provedené od 4 do 22 měsíců po porodu v 33 případech potvrdila HG SIL, v jednom případě duplicitní nález LG SIL na exocervixu a AIS (adenokarcinom in situ). U sedmi žen byl v nálezu konizátu mikroinvazivní karcinom stadia IA1 bez angioinvaze.

V polovině případů nález regredoval do dvou let po porodu. U 18 žen (22,0 %) došlo k regresi nálezu do normální cytologie a normalizaci kolposkopického nálezu, u 4 žen přetrvávala pouze HPV HR pozitivita. U 23 žen (28,0 %) došlo k regresi nálezu na LG SIL, pokud tyto léze perzistovaly více než 12 měsíců, byla ženám doporučena konizace. Ze 17 konizací byla u 13 žen potvrzena perzistující LG SIL, u dvou žen pouze mírné kondylomatózní změny, u jedné ženy byl nález hodnocen jako LG SIL a endocervikální adenoatypie a u jedné jako AIS. 6 žen plánujících další těhotenství bylo dále sledováno bez ošetření, 4 ženy v průběhu 2 let opět otěhotněly.

Ve 27 případech byla mezi 13. a 23. týdnem těhotenství provedena konizace, neboť prebioptický nález signalizoval možnost počínající invaze. HPV HR pozitivní stěr byl u 26 (96,3 %) žen (Tab.1). V 8 případech (29,6%) jsme diagnostikovali počínající

invazi, mikrokarcinom stadia IA1. U 19 žen (70,4%) nebyla v konizátu diagnostikována invaze ale vždy nález HG SIL (Tab. 3).

Korelace prebioptických metod cytologie a kolposkopie k výsledku histologie (mikroinvazi) nevyznívá pro prebioptické metody příznivě (Tab. 3). Pro kolposkopii je citlivost 71,4%, specifita 30%, PPV 26,3 a NPV 75%. Míra shody obou testů je nízká pouze 40,7% co je vyjádřeno korelačním koeficientem Kappa 0,009. Pro cytologii je citlivost 84,6% specifita 42,9%, PPV 57,9% a NPV 75%. Míra shody obou testů je 63% a Kappa 0,27.

Tab. 3. Cytologie, expertní kolposkopie a histologie u podezření na mikroinvazi

	CYTOLOGIE	KOLPOSKOPIE	HISTOLOGIE
1	HG/susp. ca	+	Mi ca
2	HG/susp. ca	+	HG
3	HG/susp. ca	+	Mi ca
4	HG/susp. ca	+	Mi ca
5	HG/susp. ca	+	HG
6	HG/susp. ca	+	HG
7	HG/susp. Ca	+	Mi ca
8	ASc-H	+	HG
9	HG SIL	+	HG
10	HG SIL	+	HG
11	HG SIL	+	Mi ca
12	HG SIL	+	HG
13	HG SIL	+	HG
14	HG SIL	+	HG
15	HG SIL	+	HG
16	HG SIL	+	Mi ca
17	HG SIL	+	HG
18	HG SIL	+	HG
19	HG SIL	+	HG
20	HG SIL	+	HG
21	HG/susp. Ca	HG	HG
22	HG/susp. Ca	HG	Mi ca
23	HG/susp. Ca	LG-HG	HG
24	HG/susp. Ca	HG	HG
25	HG/susp. Ca	HG	HG
26	Susp. Ca	HG	Mi ca
27	Susp. Ca	HG	HG

CYTOLOGIE: **HG/susp. Ca**, cytologie suspektní z počínající invaze
KOLPOSKOPIE: **+**, nelze vyloučit počínající invazi
HISTOLOGIE: Mica – mikrokarcinom, HG – těžká prekanceróza bez prokazatelné incipientní invaze

Tab. 4. Konizace v těhotenství celkem, okraje konizátu

Histologie	Počet žen (%)	Okraj komitátu	
MiCa Ia1	8 (29,6 %)	pozitivní	5
		negativní	3
HG SIL	19 (70,4 %)	pozitivní	8
		negativní	11

V tabulce 4 je přehled konizací a histopatologické hodnocení okrajů konizátů. U 14 konizací (51,9 %) nález nedosahoval okrajů řezu (11 HG SIL a 3 IA1). U této skupiny jsme v následujících dvou letech po porodu neprokázali perzistenci nebo recidivu onemocnění. U 13 konizací (48,1 %) nález dosahoval okraje nebo jej nebylo možno exaktně pro termické artefakty hodnotit (8x HG SIL, 5x IA1). Tyto ženy byly dále sledovány během těhotenství a po porodu. U čtyř nebyl po porodu v cytologii a kolposkopii abnormální nález. U 8 žen byla od 6 dnů do 8 měsíců po porodu provedena rekonizace (1x IA1, 5x HG SIL, 2x LG SIL). U jedné ženy byla konizace provedena v 16. týdnu těhotenství, byl diagnostikován mikroinvazivní karcinom IA1 (1mm invaze v ploše 2mm) a v proximálním okraji dosahoval CIS okraje řezu. Tato žena se nedostavila na žádnou z následujících kontrol, v průběhu těhotenství a byla vyšetřena až 8 měsíců po porodu pro objemnou suspektní rezistenci v prsu (karcinom stadia T3, N1) a současně na hrdle děložním byl invazivní karcinom. Žena podstoupila radikální operaci dle Wertheima – Okabayashiho (spinocelulární karcinom s invazí 8 mm, plošně 15 mm – T1b, 32 negativních uzlin – N0) a komplexní léčbu karcinomu prsu onemocnění ovšem progredovalo a žena zemřela na generalizaci karcinomu prsu.

Pouze u jedné rizikové ženy jsme zaznamenali komplikaci, kterou lze dávat do souvislosti s konizací. Tato žena potratila 2 dny po provedené konizaci v 17. týdnu gravidity za příznaků krvácení a předčasného odtoku plodové vody. Tato pacientka byla od 12. týdne do výkonu hospitalizována pro krvácení a retroplacentární hematom. Histopatologický nález v konizátu byl mikroinvazivní karcinom stadia IA1. Jiné komplikace jsme nezaznamenali. Pouze jedna žena porodila spontánně v 35. týdnu (3,8 %), všechny ostatní ženy porodily mezi 37. a 41. týdnem. Pouze tři ženy (11,5 %) ze souboru rodily císařským řezem.

3.4. Diskuze

V dnešní době je u diagnostikovaných HG SIL u netěhotné ženy standardním postupem indikace některé z excizních metod. Konzervativní postup založený na pečlivé dispenzarizaci HG SIL je akceptován pouze u těhotných (4,16,26,54). V literatuře však nejsou dostupné větší soubory o které se tato praxe opírá (35). Základem diagnostiky je kvalitní cytologie a expertní kolposkopie (6,23,30,54). HPV HR testace není u HG lézí díky nízké specificitě i přes vysokou senzitivitu pro diagnosticko terapeutický algoritmus přínosem. V této studii protokol předepisoval histologické potvrzení kolposkopicky cílenou punch biopsií. Ve shodě s literaturou jsme nezaznamenali žádnou závažnější komplikaci po punch biopsii i přes to, že jsme na rozdíl od jiných prací nepoužívali vasokonstrikčních ani hemostatických substancí (55). Pokud je jasná shoda cytologie a expertní kolposkopie není nutné provádět punch biopsii. Tu lze doporučit jako vhodnou a bezpečnou metodu ke zpřesnění diagnózy při neshodě mezi výsledkem cytologie a expertní kolposkopie. Zásadní otázkou kolposkopicky cílené biopsie je její reprezentativnost, zejména u plošně rozsáhlejších lézí. V těchto případech je vhodné provést více biopsií. Všechny punch biopsie byly prováděny Schumacherovými bioptickými kleštěmi s excizní plochou 7x5mm. V těhotenství je převážná většina lézí lokalizována exocervikálně a případy „nedostatečný kolposkopický nález" jsou raritní což zvyšuje spolehlivost punch biopsie v těhotenství. Ze 185 punch biopsií bylo pouze 5 (2,7 %) pro patologa nehodnotitelných. V souboru HG SIL regredoval nález do 2 let po porodu v 50 %. Publikované práce popisují spontánní regresi těžkých prekanceróz v 25-33 % (16,35). U 18 žen (22%) nález cytotologie a kolposkopie regredoval do normálních hodnot, u 15 žen včetně HPV HR pozitivity. U 28 žen nález HG SIL regredoval na LG SIL, ve dvou případech jsme diagnostikovali koincidenci s adenoatypiemi endocervixu. V literatuře není publikován soubor regresí histologicky verifikovaných HG SIL u netěhotných, s nímž by bylo možno tento soubor porovnat. Pro vyhodnocení bezpečnosti observačních postupů je nejvýznamnější riziko progrese v mikrokarcinom a invazivní karcinom. Progresi do mikrokarcinomu v intervalu 27 až 80 týdnů jsme zachytili v 7 případech (8,5 %), ve všech případech stadia IA1 do 2 mm bez angioinvaze. Dvě ženy po konizaci preferovali odstranění dělohy, u ostatních byla terapeutickým výkonem konizace. U žádné ženy neprogredoval nález do invaze IA2 a více, což by vyžadovalo primárně provedení radikální hysterektomie. Naše prospektivní práce potvrzuje, že u správně diagnostikovaných HG SIL v první polovině těhotenství lze

u plně poučené a spolupracující ženy považovat neinvazivní, observační postup za bezpečný.

Nejdůležitějším momentem v diagnosticko-terapeutickém algoritmu prekanceróz v těhotenství je vyloučení počínajícího invazivního karcinomu. Cytologická a expertní kolposkopická diagnostika mikrokarcinomu je u netěhotných i v těhotenství obtížná. Pro vyloučení počínající invaze je insuficientní malá biopsie i excize a pouze ablativní metody (konizace, LETZ) poskytují odpovídající a reprezentativní vzorek. Konizace v těhotenství je vhodné provádět mezi 13. a 24. týdnem přičemž tento výkon je všeobecně považován za riskantní (4,26,54). V této prospektivní studii jsme ověřili poměrně bezpečnou metodiku provádní konizací jehlou a kličkou. Jediná žena, která po výkonu potratila, byla vysoce riziková a přímá souvislost s výkonem je diskutabilní. Radikalita konizací je v těhotenství vždy menší než u netěhotných, a tak nepřekvapuje vysoké procento žen s nálezem pozitivity resekčních linií. U řady plošně rozsáhlých lézí jsme si však byli vědomi insuficience radikality, ale základním cílem bylo odstranit nejsuspektnější ložiska. Spolupráce s patologem, včetně orientace preparátu na polystyren před fixací a dodání topografie kolposkopického nálezu, by mělo být standardním postupem. Vyslovená suspekce z incipientní invaze se potvrdila v našem souboru konizací v 30 % případů. Tato práce potvrzuje obtížnost prebioptické diagnostiky mikroinvaze. I když cytologie a kolposkopie zachytí stejný počet mikroinvazí, kolposkopie více nadhodnocuje a tím má horší specificitu a PPV. Ve vlastním managementu jsme nyní zařadili k výsledku cytologie a expertní kolposkopii ještě další nezávislé expertní kolposkopické vyšetření před vlastní indikací konizace. Sama žena však musí být informována o nálezu a spolurozhodovat o konizaci. Přes minimální riziko vzniku pooperačních komplikací po konizacích a neprokázaném riziku konizace v těhotenství na předčasný porod v našem souboru je nutné ke každé konizaci v těhotenství přistupovat po zralé indikační úvaze. Význam spolupráce a bedlivé dispenzarizace dokládá kazuistický případ jediné naší pacientky, která se dostavila na kontrolu až po 8 měsících po porodu, a to ještě z důvodu suspektní rezistence v prsu. U této mladé ženy radikální operace vyřešila karcinom děložního hrdla, ale duplicitní karcinom prsu generalizoval a vedl k úmrtí klientky.

3.5. Závěr

U správně diagnostikovaných HG SIL v první polovině těhotenství lze u plně poučené a spolupracující ženy považovat neinvazivní, observační postup v průběhu

těhotenství a v poporodním období za bezpečný. 50 % regresí po porodu je poměrně vysoké číslo. Expertní kolposkopie a cytologie se v diagnostickém algoritmu doplňují, kolposkopicky provedená punch biopsie v těhotenství je bezpečnou metodou zpřesňující diagnostický algoritmus. Existuje však přibližně 10 % riziko progrese do mikrokarcinomu, o němž musí být žena poučena.

Při nejistotě o počínající invazi je do 24. týdne těhotenství indikována ablační metoda. Míra shody prebioptického odhadu cytologie a kolposkopie pro počínající invazi je nízká. Citlivost i specifita cytologie je lepší než kolposkopie, která častěji nadhodnocje nálezy.Konizace jehlou nebo LETZ provedená v naší modifikaci má minimální riziko peroperačních komplikací a časných pooperačních komplikací. U žen po konizacích v těhotenství nebylo prokázáno zvýšené riziko předčasných porodů, i když tento závěr je limitován velikostí souboru.

4. Radikalitu redukující postupy u fertilitu zachovávajících operací u časných invazivních karcinomů děložního hrdla

4.1. Přehled dané problematiky

V posledních dvaceti letech se výrazně posunul průměrný věk prvorodiček a stále více žen odkládá těhotenství po 30. roce života. Tento trend vede ke zvyšujícímu se počtu žen, které plánují těhotenství a zároveň je u nich diagnostikován invazivní karcinom děložního hrdla (40). Statistická čísla počtu hlášených invazivních karcinomů v ČR v pětiletých kohortách ve věku do 35 let uvádí Tab. 5. Předpokládáme, že více než 1/3 těchto hlášených ZN jsou mikroinvazivní karcinomy stadia IA1 (35-40 %), jedna třetina žen již děti má a další neplánuje anebo děti mít nechce. Přibližně jedna třetina žen s nově diagnostikovaným invazivním karcinomem jsou potencionální kandidátky na fertilitu zachovávající operace.

Tab. 5. Hlášená nová onemocnění zhoubné nádory hrdla děložního – C53 ve věkové skupině 20-34 let v letech 2000-2004

	Rok	Celkem všechny věkové skupiny	Celkem 20-34 let	20-24 let	25-29 let	30-34 let
a	2000	1045	150	12	57	81
b		19,8		2,8	13,8	24,0
a	2001	1043	139	8	39	92
b		19,9		2,0	9,1	27,1
a	2002	1065	162	4	51	87
b		20,3		1,0	11,6	25,0
a	2003	1007	115	7	38	70
b		19,2		1,9	8,5	19,2
a	2004	1033	147	8	39	100
b		19,7		2,3	8,9	25,7

a – absolutní čísla
b – incidence na 100 000 žen příslušné věkové skupiny

Konizace provedená „in sano", tedy bez postižení okrajů, je správným postupem u ženy ve fertilním věku pouze u počínajících invazivních karcinomů stadia IA1 (invaze do 3 mm, plošně do 7mm), kdy není přítomna angioinvaze (LVSI). Konizace zachovává možnosti následného těhotenství s rizikem pro předčasný odtok plodové vody a předčasné porody (31).

Standardním postupem řešení invazivních karcinomů stadia IA2 a IB1 je radikální hysterektomie a pánevní lymfadenektomie (11,12,25,53). Jde v principu o odstranění

postiženého orgánu a okolních tkání paracervixu tzv. parametrií a regionálních pánevních lymfatických uzlin. Tento standardní postup zbavuje ženu šance na těhotenství. V druhé části naší experinemtální práce se věnujeme nejdříve poznatkům, které nám přinesla studie techniky lymfatického mapování sentinelových uzlin o lymfatickém šíření nádoru u časných stadií zhoubných nádorů děložního hrdla. V současné době je totiž popsáno několik fertilitu zachovávajících postupů, které se liší technickým přístupem a i rozdílnou radikalitou odstranění děložního hrdla a parametrií (13,14,15,17,19,24,44,49). Každý z těchto postupů by měl vykazovat riziko recidivy (onkologické výsledky), které bude srovnatelné s dnešním standardním postupem, tedy radikální hysterektomií. Současně musí být tyto techniky dostatečně konzervativní, aby v přijatelném procentu zachovaly fertilitu (reprodukční výsledky) a zároveň umožnily co největšímu počtu žen donosit zdravé dítě s co nejmenším rizikem prematurity (perinatologické výsledky). Tyto fertilitu zachovávající postupy je nutno hodnotit z těchto tří pohledů (42,44,45,56,57).

Laparotomický přístup a provedení radikální abdominální trachelektomie (ART) je historicky nejstarší modalitou, kterou popsal a provedl v roce 1932 rumunský chirurg Aburel (1). Po dlouhé době se k principu tohoto postupu vrátil a publikoval své první zkušenosti v roce 1997 Smith (60). Aktuální literární přehled o abdominálních radikálních trachelektomiích publikoval Abu Rustum v roce 2006 (2). Fukuchi et al.(24) referuje v nejnovějších sdělení o 56 provedených operacích přičemž u 51 se podařilo zachovat dělohu. Jedna žena otěhotněla při odstupu od operace s mediánem 20 měsíců (0-52 měsíců) a potratila v 24.. týdnu těhotenství, u jedné ženy diagnostikovali recidivu. V dalším souboru 91 žen, u nichž byla provedena ART v letech 1997 až 2007 skupinou Smith, Ungar, Del Priore (63), byly popsány dvě recidivy (2,4 %) a 5 porodů. V naší literatuře vlastní soubor tří prvních případů, technický postup a literární přehled popsal Cibula v roce 2005 (14). Dargent (21) vyjádřil v roce 2002 velice kritický pohled na tuto metodu, která nesplňuje kriteria minimálně invazivních postupů, v našem písemnictví to byl Rob (50). Objektivně však jde o jediný postup, který zcela splňuje všechny požadavky na „standardní onkologickou radikalitu" řešení invazivních karcinomů děložního hrdla. Špatné reprodukční i perinatologické výsledky nevyváží velice dobré onkologické výsledky a dávají kritikům tohoto postupu za pravdu. Po laparotomicky provedené lymfadenektomii musíme předpokládat více adhezí než po laparoskopické lymfadenektomii. Radikální resekce parametrií bez zachování (60,61,63) nebo i při selektivním zachováním uterinní arterie (24) neovlivní dlouhodobě krevní oběh dělohy, ale musí vést k poškození podstatné části větví pánevního nervového plexu, které

přistupují k děloze. Ani techniky nervy šetřících postupů zde nemohou ochránit větvení hypogastrických nervů (hypogastrického plexu) a pánevních splanchnických nervů, které přistupuji v parametriích (paracervixu) k děloze a inervují i vejcovod. Jsme schopni technicky uchránit a zachovat podstatnou část inervace měchýře a rekta, ale radikální resekcí parametrií s exstirpací hrdla a následnou anastomózou dělohy k pochvě se inervace nezachová. Vaginální přístup exstirpace hrdla nám navíc umožní exaktnější a šetrnější odstranění odpovídající části děložního hrdla i poševní manžety oproti přístupu abdominálnímu.

Rozvoj laparoskopie a technický pokrok tohoto minimálně invazivního přístupu vedl postupně ke konci 80. let k využití laparoskopie k provádění lymfadenektomií, čímž současně přinesl renesanci radikální vaginální hysterektomie (19,20). Průkopníkem byl francouzský onkogynekolog Dargent. Po provedení prvních laparoskopických lymfadenektomií s vaginální radikální hysterektomií došel ke geniální myšlence a realizaci prvních laparoskopických lymfadenektomií, které spojil s vaginální radikální trachelektomií. Zkušenosti z prvních 28 případů (1987 – 1993) Dargent poprvé přednesl a publikoval na konferenci SGO v roce 1994 (19). Tento postup byl v diskusi podroben poměrně zdrcující kritice řady amerických onkogynekologů. Našel však okamžitě řadu pokračovatelů a během krátké doby se tato metoda stala akceptovanou. Od konce 90. let je "standardním" postupem pro fertilitu zachovávající operace. V České republice byla tato operace pod vedením profesora Dargenta poprvé provedena na našem pracovišti v Motole v roce 1997. Technika exstirpace děložního hrdla v tomto „prvním" období se blížila téměř kompletní amputaci. Při vaginální části operace je snaha o uchování cévního zásobení z uterinní arterie, tím však je částečně limitován rozsah resekce mediální části laterálního parametria a zadních parametrií. V české literatuře poprvé publikoval zkušenosti s tímto výkonem v roce 2000 Bartoš (5), v roce 2001 jsme v komentáři Gynekologie po promoci (50) diskutovali článek Dargenta a referovali pilotní poznatky s vlastním modifikovaným postupem. Zkušenosti s radikálními trachelektomiemi z největších center včetně svého souboru shrnula přehledně Plante (45). Do současné doby bylo publikováno více než 500 těchto operací (5,13,17,20,39,44,56,57,59). Procento recidiv je u nádorů do 20 mm v největším rozměru 4,1 (mortalita 2,6 %). Ženy s pozitivním nálezem v lymfatických uzlinách však byly ze všech souborů vyřazeny. Procento recidiv u nádorů s rozměrem nad 20 mm se blíží téměř 20 (42 žen/8 recidiv). Dnes je doporučeno indikovat k radikální vaginální trachelektomii z původní indikace všech nádorů klinického stadia IB1 pouze nádory nepřesahující v největším rozměru

20 mm. Onkologické výsledky u těchto žen se neliší od standardního postupu, kterým je radikální hysterektomie. Plante (44) shrnula ve své publikaci výsledky následných těhotenství po radikálních trachelektomiích. V šesti centrech z 310 žen otěhotnělo 98 žen (32 %), u kterých bylo celkem 149 těhotenství. Z nich 101 skončilo porodem (68 %). Výsledky jednotlivých center se výrazně liší (9,19,39,42,57,58). Nejvyšší procento prematurit ze 4 pracovišť, které mají nad 50 operací, má Londýnské centrum profesora Shepherda. Ze 145 žen dosáhl 70 těhotenství u 46 žen a 24 žen porodilo 33 živých dětí.

Tab. 6. Srovnání těhotenských výsledků

	Schlearth et al.[59] *n=12*	**Burnett et al.[13]** *n=21*	**Shepherd et al. [57]** *n=30*	**Mathevet et al. [39]** *n=95*	**Bernardini et al. [9]** *n=80*	**Plante et al. [45]** *n=72*
Těhotenství/ženy	4/4 ženy	3/3 ženy	14/8 žen	56/34 žen	22/18 žen	50/31 žen
Těhotenské ztráty v 1. trimestru						
SAB	0	0	4 (29%)	9 (16%)	3 (14%)	8 (16%)
TAB	0	0	0	3	0	2
GEU	0	0	0	2	0	0
Těhotenské ztráty v 2. trimestru	2 (50%)	1 (33%)	1 (7%)	8 (14%)	1 (4,5%)	2 (4%)
Porody v 3. trimestru	2(50%)	2(66%)	9 (64%)	34 (61%)	18 (82%)	36 (72%)
24.-28. týden	0	1	3	5	2	2
29.-32. týden	1	0	1		1	1
33.-36. týden	0	0	3		3	5
>37. týden	1 (50%)	1 (50%)	2(22%)	29 (85%)	12 (67%)	28 (72%)

SAB: spontánní potraty
TAB: terapeutické potraty
GEU: mimoděložní těhotenství

V souboru bylo 24% předčasných porodů do 32. týdne. Tyto své výsledky podrobil kritice a přičítá je zbytečné radikalitě délky exstirpace hrdla včetně parametrií (58). Souborně jsou přesto u tohoto postupu výsledky onkologické a reprodukční včetně počtu porodů velmi uspokojivé (Tab. 6).

Kompletní (totální) laparoskopická radikální trachelektomie je další metodou zachovávající fertilitu. Poprvé tento postup publikoval Lee a jedna kasuistika je i od českého autora (15). Sdělení jsou kasuistikami, pouze Japonec Andou (3) referoval o 22 případech totálně laparoskopicky provedených radikálních trachelektomií

s laparoskopicky provedenou radikální resekcí parametrií. Z 22 žen při době sledování 1-59 měsíců otěhotněly zatím pouze dvě. První potratila v 21. týdnu těhotenství, druhé těhotenství skončilo úspěšně ale předčasným porodem v 33. týdnu s váhou dítěte 1908 g. Pravděpodobně i zde platí, že maximálně radikální parametrektomie ovlivňuje schopnost fertility a kompletní přerušení inervace z oblasti pelvického plexu snižuje schopnost těhotenství. Adekvátní odstranění části hrdla lze rychleji a exaktněji provést vaginálně než celý výkon provádět laparoskopicky. Andou dosáhl u prvních 18 operací průměrného času 8,3 hodiny, u dalších 10 operací 6,5 hodiny (3).

První zkušenosti z laparoskopickými lymfadenektomiemi se na našem pracovišti rozvíjeli, díky spolupráci s profesorem Dargentem. Ve stejné době jsme z mnoha diskusí a podnětů začali pracovat na společném projektu mapování spádových sentinelových uzlin. V roce 1998 jsme po procesu schválení mimořádného dovozu Patent bleu (Gerbet) začali pilotní projekt s detekcí sentinelových uzlin. Po zkušenostech s mapováním u 25 žen s cervikálním karcinomem a po diskusích s profesorem Dargentem jsme vytvořili protokol, který s minimální změnou v ředění Patentové modři používáme s vysokou efektivitou dodnes. Postup jsme zdokonalili v roce 2002 používáním kombinace modři a radiokoloidu technecia (51,52). První pilotní zkušenosti ze sledování modrých lymfatických kanálů, které většinou bez přerušení probíhají mediální částí parametria a kříží obliterovanou chordu umbilikální arterie a vstupují do lymfatických uzlin pánevních spolu s výsledky distribuce sentinelových uzlin s převahou v supraobturatorní fose nebo v prostoru zevních ilických cév bez pozitivních nálezů v mediální části laterálních parametrií, nás vedly k myšlence zpochybnění limitované resekce parametrií, která se provádí u radikální vaginální trachelektomie při zachování uterinní arterie. Provedli jsme retrospektivní vyhodnocení rizika postižení resekovaných parametrií u žen po radikálních hysterektomiích. Zaměřili jsme se na ženy s negativními pánevními uzlinami a nádory stadia IA2 a IB1, které splňovali kriteria pro „konzervativní" operace tedy nádorů s infiltrací méně než 20 mm v největším rozměru. Druhé naše kriterium byla infiltrace méně než poloviny stromatu. V souboru 40 karcinomů IA2 a 85 karcinomů stadia IB1 z let 1989 až 1996, které vyhovovaly kriteriím nádoru do 2 cm a invazi méně než poloviny stromatu a negativitě pánevních lymfatických uzlin, jsme nenalezli pozitivní nález v parametriích preparátu dělohy. Na základě těchto skutečností jsme na konci roku 1998 získali schválení etické komise našeho nového léčebného postupu, projektu konzervativnějších operací než je radikální trachelektomie, protokolu LAP 1.

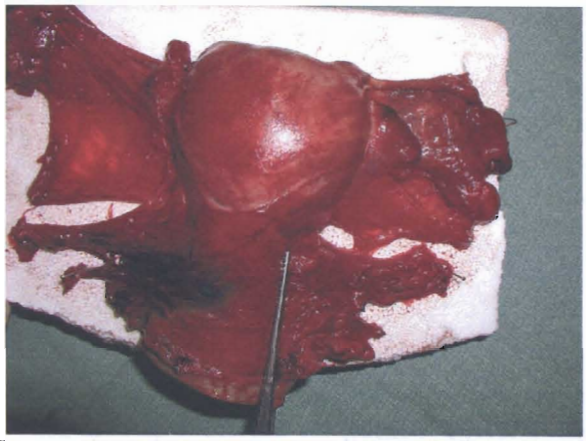
4.2. Metody

Pro vyhodnocení rizika nádorového postižení mediální části paracervixu (mediální části laterálního parametria, předních parametrií tedy části vesiko-uterinních ligament tzv. „bladder pilar" a zadních parametrií – sakrouterinního ligamenta tzv. „rectal pillar") jsme použili prospektivní studii mapování sentinelových uzlin s použitím patentové modři anebo kombinace radiokoloidu technecia a patentové modři u časných stadií invazivních karcinomů. Do souboru byly zařazeny pouze ženy adekvátně radikálně operované modifikovanou radikální hysterektomií dle Wertheima – Okabayashiho (resekce parametrií odpovídá ve staré klasifikace Rutladge-Piver typu III) od února 2000 do září 2006. Ze souboru jsme vyřadili ženy se známkami extrauterinní diseminace, s přítomností jasně zvětšených klinicky suspektních lymfatických uzlin a pokud v definitivní histologii nádor infiltruje více než 2/3 stromatu hrdla. Všechny ženy souhlasily se zařazením do studie SLNM II (protokol detekce sentinelových uzlin) a byly ve věku 18 až 70 let. Kriteria splňovalo celkem 158 žen časných stadií invazivních karcinomů IA2 a IB1. Soubor jsme pro vlastní hodnocení ještě rozdělili na dvě skupiny dle rozměru nádoru a rozsahu infiltrace stromatu hrdla. Skupina první: nádory s největším rozměrem do 20 mm a infiltrací do stromatu nepřesahující jeho polovinu; druhá skupina: nádory s největším rozměrem více jak 20mm ne více jak 30mm anebo infiltrací stromatu hrdla více než poloviny, ale ne více jak 2/3 stromatu. Histopatologické zpracování dělohy a parametrií, sentinelových uzlin a ostatních exstirpovaných uzlin bylo prováděno na Ústavu patologie a molekulární biologie 2 LF UK Praha dle standardně vypracovaného protokolu (52). Děloha je operatérem na operačním sále topograficky orientována s parametrii na polystyrénovou desku (Obr. 1,2,3) a sentinelové uzliny i ostatní uzliny jsou samostatně identifikovány dle jednotlivých topografických oblastí. Vyhodnotili jsme vztah mezi rizikem metastatického postižení sentinelových uzlin a rizikem postižení mediální části laterálních parametrií, předních i zadních parametrií u časných stadií cervikálních karcinomů.

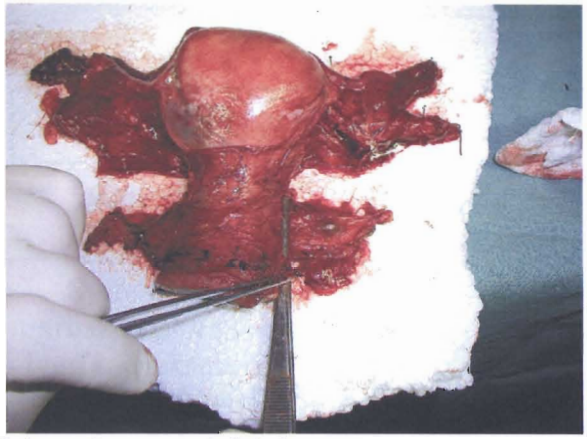
Výsledky získané v jednotlivých skupinách jsme porovnávali χ^2 testem nezávislosti s Yatesovou korekcí pomocí čtyřpolních kontingenčních tabulek a v případě malého počtu případů dvoustranným Fisherovým exaktním testem pro srovnání rozdílů mezi skupinami s použitím počítačového programu GraphPad Instat, verze 3.05 – (GraphPadSoftware, San Diego, California). Vedle pravděpodobnosti p jsme počítali interakci (odds ratio = OR), 95% intervaly spolehlivosti (CI 95%). Výsledky byly statisticky významné, jestliže hodnota pravděpodobnosti p byla menší než 0.05.

Protokol experimentálního postupu „Konzervativní fertilitu zachovávající operace – SLNM LAP I protokol" (obr. 4) byl odsouhlasen etickou komisí a nemocniční vědeckou radou FN v Motole jako nový léčebný postup v lednu 1999. Od roku 1999 do prosince 2006 bylo zařazeno 36 žen (2 ženy T1A1, 8 žen T1A2 a 26 žen T1B1) splňujících vstupní kritéria protokolu pro konzervativní operaci zachovávající dělohu. Kritéria pro zařazení: nádor do 20 mm v největším rozměru a infiltrující méně než polovinu stromatu hrdla prokázaný ultrasonografickou volumometrií (UZ) a volumometrií pomocí magnetické rezonance (MR), normální hladina SCC u spinocelulárních karcinomů, fertilní věk do 35 let s přáním těhotenství, informovaný souhlas včetně poučení o nutnosti provedení radikální operace v případě zjištění peroperační pozitivity v detekovaných sentinelových uzlinách. Všechny ženy byly poučeny, že standardním postupem je radikální operace a tento postup je experimentální. Získané údaje byly shromažďovány prospektivně a založeny do databáze SLNM – LAP I protokolu.

V experimentální chirurgické části jsme zaznamenávali dle protokolu přesnou lokalizaci detekovaných sentinelových uzlin, lokalizaci hlavních lymfatických kanálů, komplikace a dle sjednocených pravidel byly psány operační protokoly. Prvním krokem nového chirurgického postupu je aplikace lymfotropní látky radiokoloidu technetia a patentové modři. K detekci sentinelových uzlin jsme použili u prvních 12 žen patentovou modř v množství 2 ml ředěnou v 2 ml fyziologického roztoku (BLEU PATENTÉ V 2.5 %, Guerbet, Francie) a od roku 2002 standardně podáváme radiokoloid ^{99m}Tc v dávce 20 MBq (SENTISCINT, Mediradiopharma LTD, Fodor Joszef NCPH, Maďarsko) a 2 ml patentové modři. Radiokoloid ^{99m}Tc je naředěn do objemu 2 ml fyziologického roztoku a je aplikován technikou 4 kvadrantů (obr. 5) peritumorosně po úvodu do celkové anestesie. Patentovou modř aplikujeme intracervikálně stejnou technikou po předchozí laparoskopické vizualizaci malé pánve. První fáze operace spočívá v laparoskopické identifikaci sentinelových uzlin, vizuální detekci průběhu lymfatických kanálů a jejich exstirpaci (obr. 6,7,8,.9,10). Uzliny jsou peroperačně vyhodnoceny technikou mrazeného řezu. V případě pozitivního nálezu je laparoskopie ukončena a dle protokolu provedena abdominální radikální hysterektomie s dolní paraaortální lymfadenektomií. U negativních sentinelových uzlin pokračujeme v systematické laparoskopické pánevní lymfadenektomii a pokud jsou detekovatelné i modré lymfatické kanály případně uzliny v mediální části laterálního parametria (obr. 11), jsou extirpovány s maximální snahou o neporušení uterinní arterie a s maximální snahou o zachování inervace přistupující parametrii z pánevního nervového



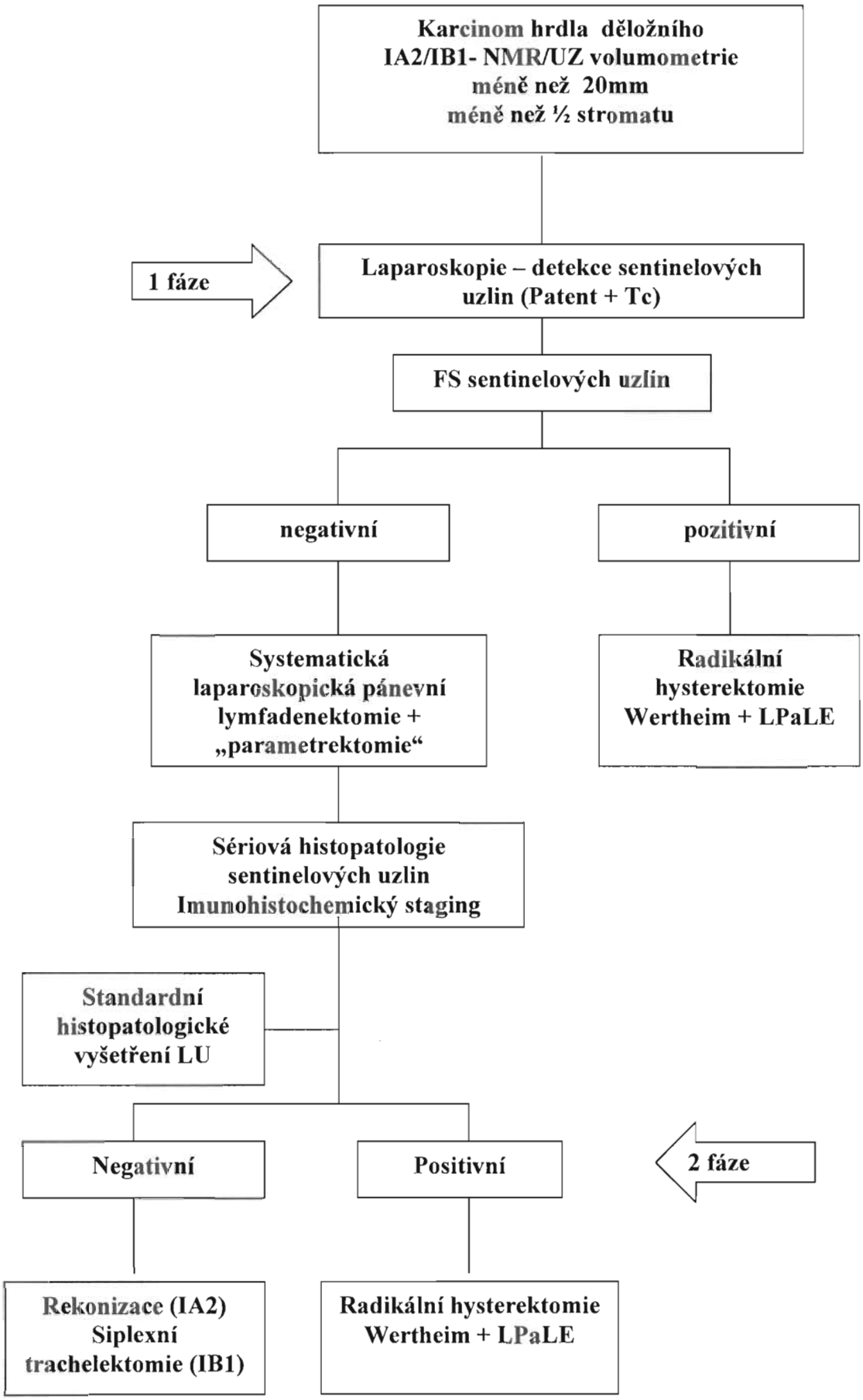
Obr. 1. Topograficky orientovaná děloha s parametrii na polystyrénové desce, hlavní eferentní kanál (trunkus) bez přerušení probíhá mediální částí laterálního parametria

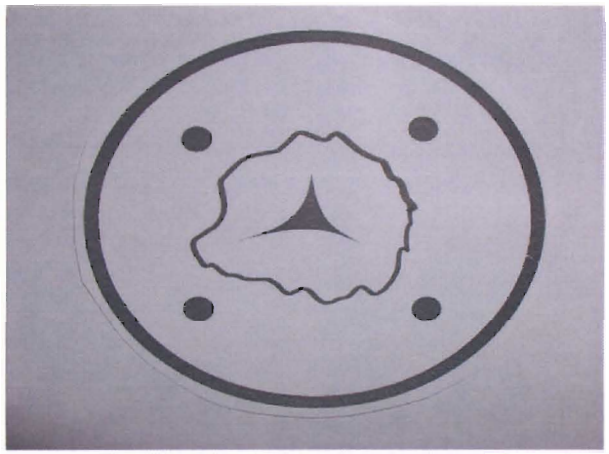


Obr. 2. Topograficky orientovaná děloha se sentinelovou uzlinou poblíž uterinní arterie v mediální části laterálního parametria

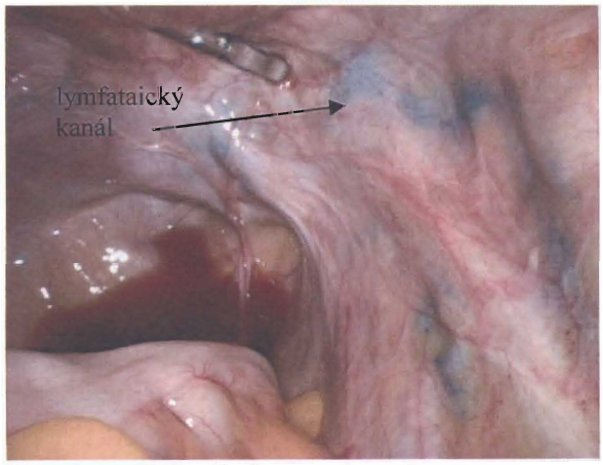
Obr. 3. Radikální trachelektomie – standardní preparát s technikou zachování uterinní artérie

Obr. 4. Experimentální protokol LAP I. protokol

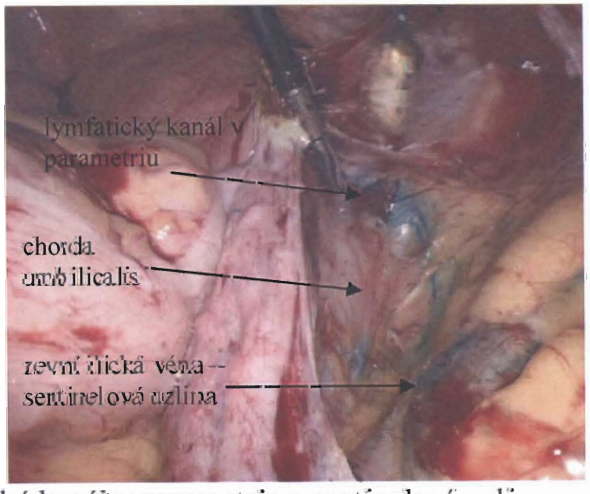




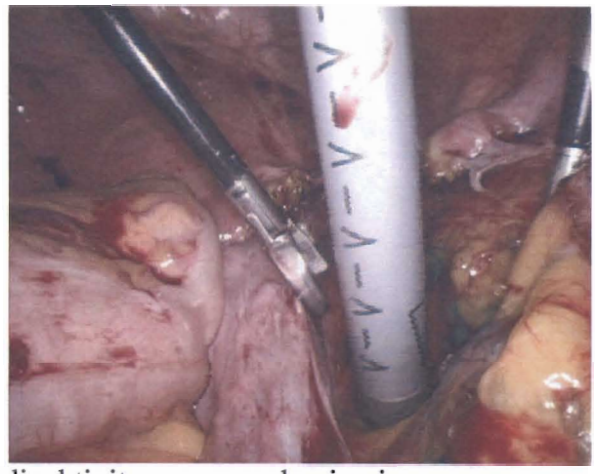
Obr. 5. Aplikace patentové modři a technecia do 4 kvadrantů, peritumorosně



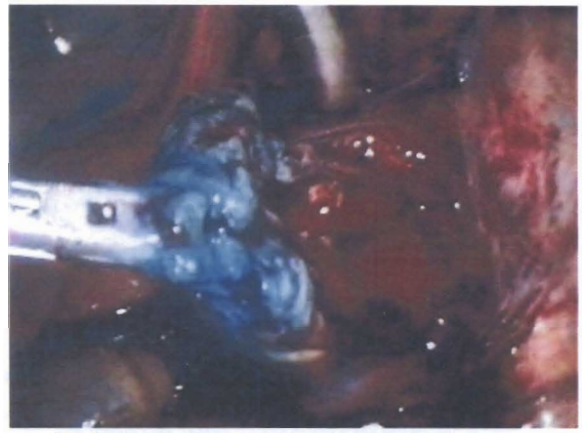
Obr. 6. Lymfatický kanál – laterálního trunku - 3 minuty po aplikaci patentové modři



Obr. 7. Lymfatický kanál v parametriu a sentinelová uzlina po otevření retroperitonea, lokalizovaná na zevní iliické véně

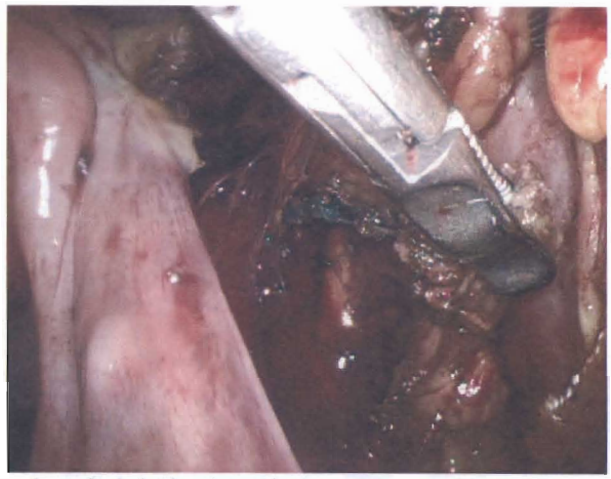


Obr.8. Měření radioaktivity gama sondou in vivo



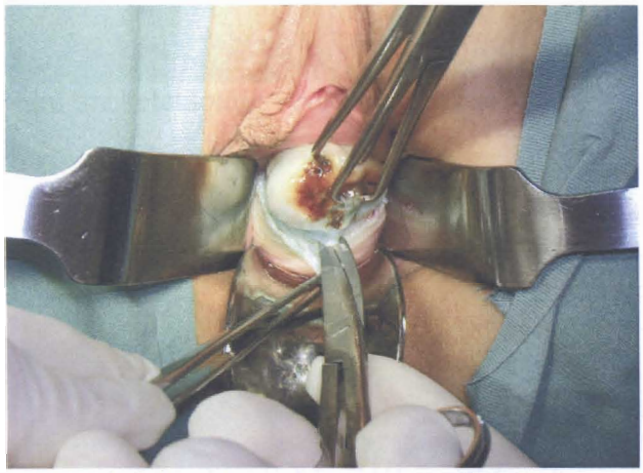
Obr.9. Extirpace snetinelové uzliny na peroperační histologii

Obr. 10. Měření radioaktivity v sentinelové uzlině gama kamerou in vitro.

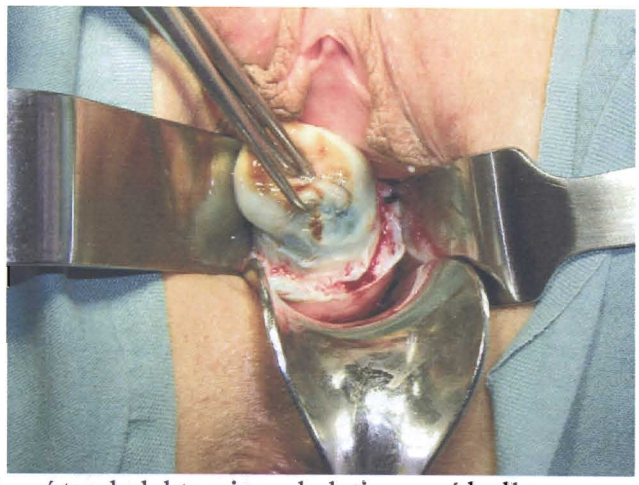


Obr.11. Extirpace lymfatického kanálu z parametria

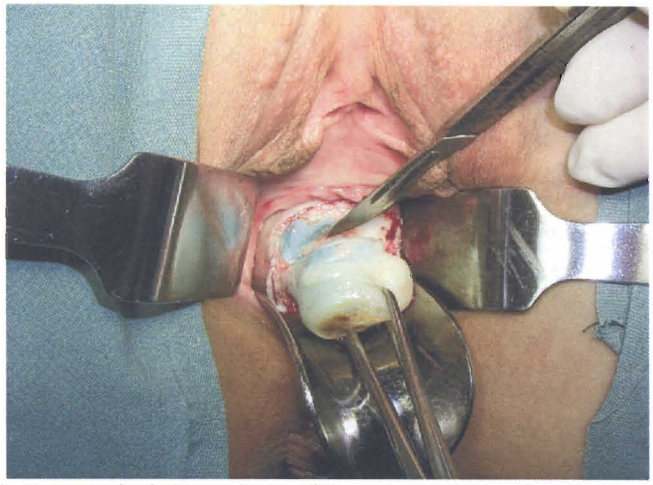
Obr. 12. Infiltrace děložního hrdla adrenalinem před trachlektomií



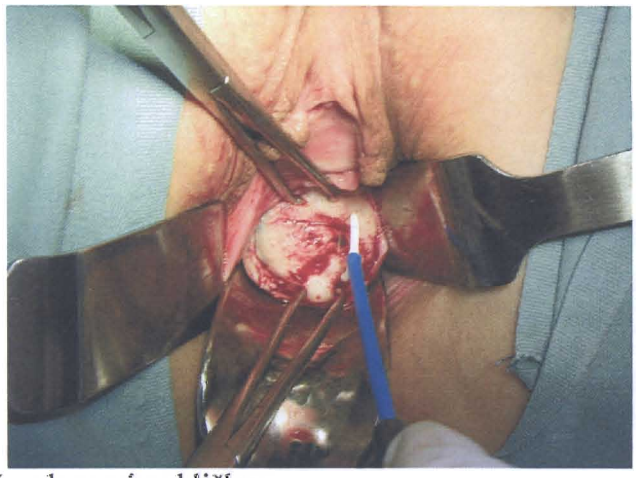
Obr.13. Simplexní trachelektomie – skeletizace hrdla



Obr. 14. Simplexní trachelektomie – skeletizované hrdlo

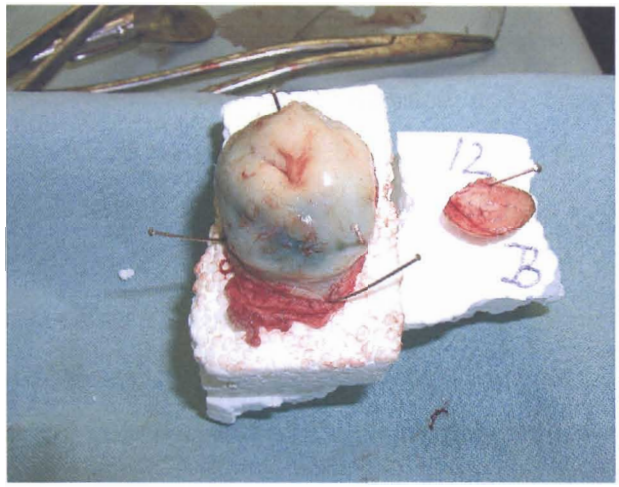


Obr. 15. Simplexní trachelektomie - odříznutí preparátu



Obr. 16. Vytětí endocervixu kličkou

Obr. 17. Simplexní trachelektomie – sutura pochvy na zevní okraj defektu po kličce



Obr.18. Simplexní trachelektomie – preparát

Obr. 19. Kolposkopie cervixu po trachelektomii

plexu. Druhou fázi operace provádíme za týden po laparoskopické fázi, pokud již známe definitivní histologii z lymfadenektomie.V stadiu IA2 provádíme jehlou rekonizaci a ve stadiu IB1 simplexní trachelektomii. Princip simplexní trachelektomie dokumentují obr.12 - 18. Po paracervikální a intracervikální infiltraci 60 až 80ml fyziologického roztoku s adrenalinem v poměru 1:100 000 vedeme iniciální incizi s vytvořením poševní manžety dle plošného šíření léze. Paracervikální skeletizace děložního hrdla je provedena v rozsahu dle nutnosti exstirpace hrdla podle velikosti nádoru. Ligujeme vždy descendentní větev uterinní arterie. Amputace je vedena se snahou být minimálně 7-10 mm nad intracervikální částí nádoru. Odhad hloubky infiltrace vychází z nálezů předoperační volumometrie magnetickou rezonancí (MR) a ultrazvukové volumometrie (US). Následuje vytětí endocervikální části LETZ kličkou 10 mm v průměru do hloubky cca 4-5 mm. Okraj pochvy je přišit na zevní okraj kličkové excize. Histopatologické zpracování bylo prováděno na Ústavu patologie a molekulární biologie 2 LF UK Praha, FN Motol dle standardně vypracovaného protokolu za který odpovídala Dr. Schlegerová - DS (1999-2005) a následně Dr. Škapa – PS (2005 až nyní). Předchozí konizace provedené na pracovištích mimo FN Motol prošly druhým čtením patologů DS nebo PS. Všechny laparoskopické operace byly provedeny pouze dvěma chirurgy (Dr. Charvátem - MCH a Dr. Robovou –HR), vaginální trachelektomie byly též provedeny pouze dvěma chirurgy (Dr. Robem – LR a Dr. Robovou – HR). Protokoly byly vyhodnocovány průběžně. Výsledky prezentované v disertaci byly aktualizovány v prosinci 2006 a k tomuto datu byly vyhodnoceny reprodukční výsledky.

4.3. Výsledky

4.3.1. Výsledky - riziko postižení parametrií, sentinelových uzlin a pánevních uzlin

V první skupině (nádor do 20 mm v největším rozměru a infiltrace stromatu méně než do poloviny stromatu) bylo 11 (12,1%) z 91 žen detekována pozitivní sentinelová uzlina. Falešně negativní sentinelovou uzlinu jsme nezaznamenali u žádné ženy v této skupině (Tab. 7), u žádné ženy s negativní sentinelovou a negativními pánevními uzlinami jsme nezjistili pozitivní nález v parametriích.

Tab. 7. Skupina I – 91 žen

Sentinelové lymfatické uzliny	Počet žen (%)	Parametria postižení (PI)	Ostatní pánevní uzliny
SLN negativní	80 (87,9%)	80 negativní (100%)	80 negativní (100%)
SLN positivní	11 (12,1%)	viz. tabulka 2	viz. tabulka 2

V tabulce 8. je shrnuta analýza žen s pozitivními sentinelovými uzlinami. U osmi žen byly pozitivní pouze sentinelové uzliny. U jedné ženy (No 42) byla pozitivní sentinelová uzlina v pravém parametriu. Všechny ženy s pozitivním nálezem v parametriu měly pozitivní sentinelovou uzlinu. V případě pozitivity sentinelové uzliny (11 žen) je však riziko postižení parametrií (27,3 %). Nezaznamenali jsme případ, kdy by byla negativní sentinelová uzlina a pozitivní nález v parametriu.

Tab 8. Skupina I – ženy s pozitivními SLN

žena No	SLN positivní	Ostatní pánevní uzliny	Paraaortální uzliny - dolní	Parametria postižení (PI)
No 15	1x SUP	34 negativních	4 negativní	Negativní
No 21	1x EXT + 1x EXT	28 negativních	5 negativních	Negativní
No 25	1x SUP	39 negativních	0	Negativní
No 39	1x EXT	45 negativních	7 negativních	Negativní
No 45	1x PRS	40 negativních	2 negativní	Negativní
No 54	1x SUP + 1x EXT	29 negativních	4 negativní	Negativní
No 83	1x EXT	33 negativních	0	Negativní
No 12	1x SUP	1 positivní 25 negativních	0	Negativní
No 42	**1x parametriální LN**	28 negativních	5 negativních	**SLN +**
No 63	1x SUP	2 positivní 39 negativní	3 negativní	**1x LN positivní**
No 76	1x EXT + 1x SUP	2 positivní 22 negativní	1 positivní	**LVSI positivní**

LN - lymfatické uzliny, SLN – sentinelové lymfatické uzliny, LVSI – lymphovaskulární invaze, SUP – supraobturatorní lymfatické uzliny, EXT – zevní ilické lymfatické uzliny PRS – presakrání lymfatické uzliny, COM – společné ilické lymfatické uzliny

V druhé skupině (nádor nad 20 mm ale méně než 30mm v největším rozměru a nebo infiltrace více než poloviny, ale méně než 2/3 stromatu) bylo z 67 žen u 14 (20,9 %) detekována pozitivní sentinelová uzlina. V této skupině jsme nezaznamenali u žádné ženy falešně negativní sentinelovou uzlinu (Tab. 9), u žádné ženy s negativní sentinelovou a negativními pánevními uzlinami jsme nezjistili pozitivní nález v parametriích.

Tab. 9 Skupina II – 67 žen

Sentinelové lymfatické uzliny	Počet žen (%)	Parametria postižení (PI)	Ostatní pánevní uzliny
SLN negativní	53 (79,1%)	53 negativní (100%)	53 negativní (100%)
SLN positivní	14 (20,9%)	viz. tabulka 4	viz. tabulka 4

V Tab. 10 je analýza žen s pozitivními sentinelovými uzlinami. U devíti žen byly pozitivní pouze sentinelové uzliny. U jedné ženy (No 66) byla pozitivní pouze sentinelová uzlina v pravém parametriu, tato žena měla v definitivní histologii všechny ostatní uzliny negativní. V případě pozitivity sentinelové uzliny (14 žen) je však riziko postižení parametrií (28,6 %). Také v této skupině měly všechny ženy s pozitivním nálezem v parametriu pozitivní sentinelovou uzlinu. Pouze u jedné ženy (No 58) s pozitivními pánevními uzlinami byla pozitivní též jedna suprapelvická (prekavální) uzlina.

Tab. 10. Skupina II – ženy s pozitivními SLN

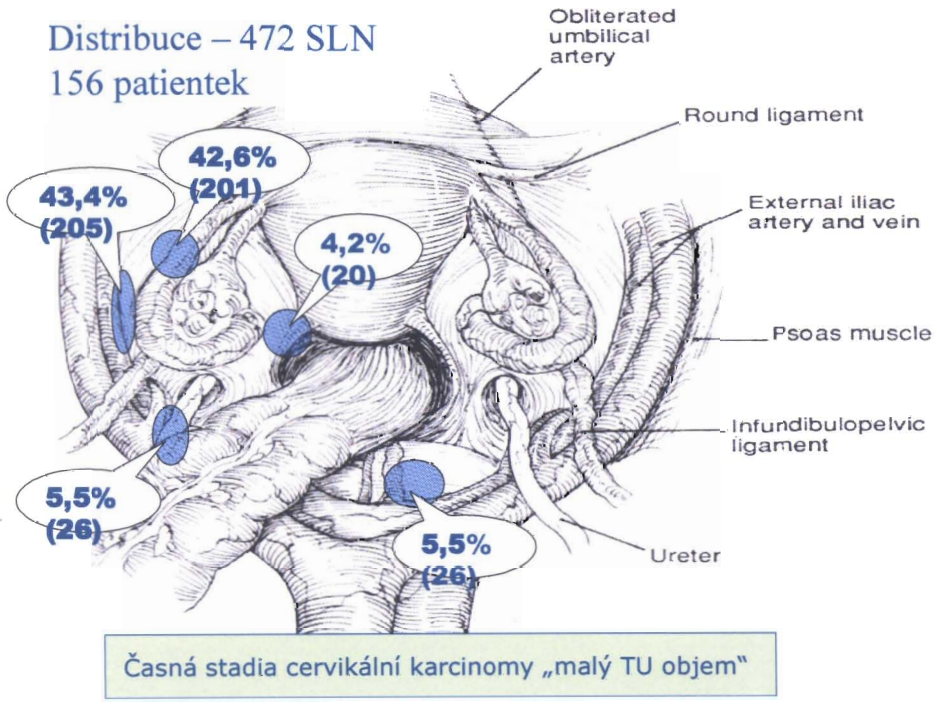
žena No	SLN positivní	Ostatní pánevní uzliny	Paraaortální uzliny – dolní	Parametria postižení (PI)
No 3	1x EXT	48 negativních	2 negativní	Negativní
No 9	1x SUP + 1x EXT	52 negativních	3 negativní	Negativní
No 15	1x EXT	19 negativních	0	Negativní
No 21	1x SUP + 1x COM	33 negativních	5 negativních	Negativní
No 24	1x EXT	28 negativních	2 negativní	Negativní
No 29	1x EXT	23 negativních	3 negativní	Negativní
No 35	1x SUP	28 negativních	0	Negativní
No 48	1x SUP + 1x PRS	45 negativních	4 negativní	Negativní
No 66	**1x parametrialní LN**	28 negativních	5 negativních	**SLN +**
No 11	1x SUP	2 positivní 29 negativních	3 negativní	**1x LN positivní**
No 38	1x EXT + 1x SUP	1 positivní 30 negativních	0	**LVSI positivní**
No 47	1x SUP	1 positivní 36 negativních	0	Negativní
No 49	1x COM	1 positivní 38 negativních	7 negativních	Negativní
No 58	1x EXT + 1x EXT	5 positivních 21 negativních	1 positivních	**LVSI positivní**

LN - lymfatické uzliny, SLN – sentinelové lymfatické uzliny, LVSI – lymphovaskulární invaze, SUP – supraobturatorní lymfatické uzliny, EXT – zevní ilické lymfatické uzliny PRS – presakrání lymfatické uzliny, COM – společné ilické lymfatické uzliny

V obou skupinách jsme u 133 žen s negativními sentinelovými uzlinami nezjistili pozitivní nález v parametrích. Z 25 žen s pozitivními sentinelovými uzlinami byl pozitivní nález v parametriu u 7 žen (28,0%). Tento rozdíl je vysoce statisticky významný P<0.0001 (OR 71.63, 95% CI 3.81-1345.4).

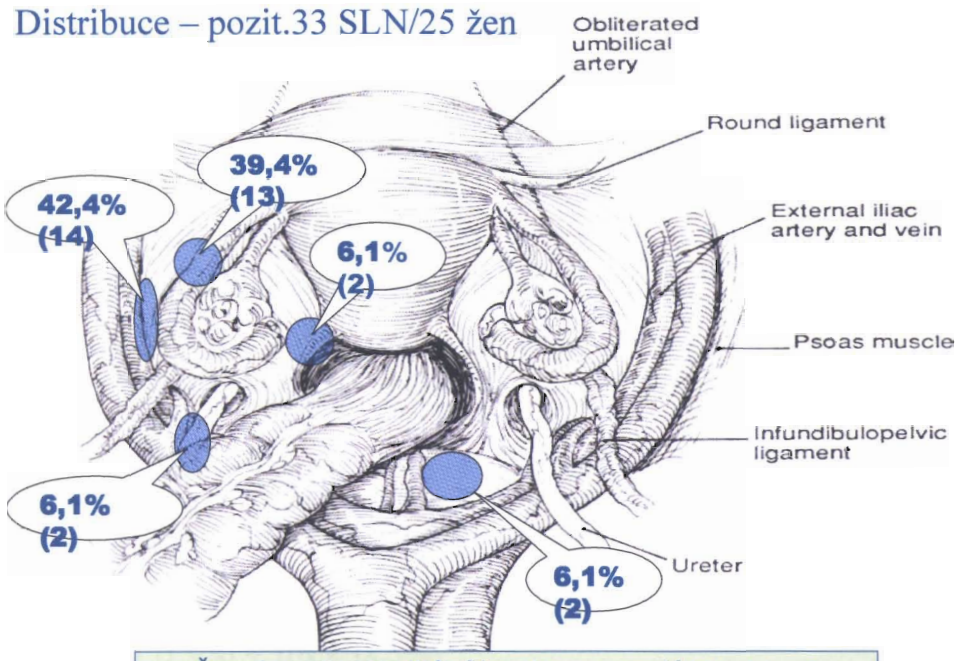
Distribuci všech detekovaných sentinelových uzlin u 156 žen (u 2 žen nedetekovány) schematicky ukazuje obr. 20. V oblasti zevních ilických cév jsme detekovali 205 SLN (43,4 %), v supraobturatorní oblasti 201 SLN (42,6 %), v mediální části parametrií 20 SLN (4,2 %), v oblasti bifurkace a společných ilických cév 26 SLN (5,5 %) a v presakrální oblasti 26 SLN (5,5 %). Žádnou uzlinu jsme nedetekovali v suprapelvické (paraaortální) oblasti. Sentinelovou uzlinu jsme nedetekovali u dvou žen (detection rate DR = 98,8 %), ve 14 případech jsme detekovali sentinelovou uzlinu pouze na jedné straně (specific side detection rate SSDR = 94,3 %). Tyto výsledky jsou ve shodě s naší předchozí publikací (52).

Obr.20



Obr. 21 – schematicky ukazuje distribuci 33 pozitivních sentinelových uzlin u 25 žen. V definitivní histologii jsme nezaznamenali falešně negativní výsledek sentinelové uzliny. V oblasti zevních ilických cév jsme detekovali 14 SLN (42,4 %), v supraobturatorní oblasti 13 SLN (39,4 %), v mediální části parametrií 2 SLN (6,1 %), v oblasti bifurkace a společných ilických cév 2 SLN (6,1 %) a v presakrální oblasti 2 SLN (6,1 %). Žádnou uzlinu jsme nedetekovali v suprapelvické (paraaortální) oblasti.

Obr. 21



Časná stadia cervikální karcinomy „malý TU objem"

4.3.2. Výsledky – konzervativní, fertilitu zachovávající operace

Od roku 1999 do prosince 2006 bylo do studie zařazeno 36 žen splňujících vstupní kritéria protokolu pro konzervativní, dělohu zachovávající operace. V tabulce č. 11 je podrobná charakteristika souboru. Většina žen našeho souboru jsou ženy, které nerodily nebo s jedním dítětem. Výjimkou je tercipara s novým partnerem. Převaha dlaždicobuněčných karcinomů odpovídá zatím u nás neuspokojivému skríningu cervikálních karcinomů. Všechny biopsie provedené na referujících pracovištích prošly druhým čtením.

Tab. 11 – Charakteristika souboru

- 36 žen
- průměrný věk 28.3 (23-35 let)
  - nullipary - 23
  - primipary - 12
  - multipary - 1 (tři děti)
- follow up: medián 41 měsíců (3-95 měsíců)
- 2x IA1 (LVSI + 2x - 100%)
- 8x IA2 (LVSI + 3x - 37.5%)
- 26x IB1 (LVSI + 10x - 38.5%)
  - invaze < 5 mm - 3x
  - invaze 5.1- 10.0 mm - 15x
  - invaze > 10.1 mm - 8x
- histologie
  - dlaždicobuněčný karcinom 27x = 75%
  - adenokarcinom 8x = 22%
  - adenoskvamózní karcinom 1x = 3%
- grade
  - 1 - 15x = 42%
  - 2 - 13x = 36%
  - 3 - 8x = 22%
- LVSI
  - positivní - 16x = 44%
  - negativní - 20x = 56%

V tabulce 12 jsou shrnuty peroperační a operační charakteristiky souboru. Detekce sentinelových uzlin výrazně stoupla po zařazení radiokoloidu ^{99m}Tc. Pro úspěšnou detekci je nutné správné časování aplikace radiokoloidu a modři. Pro detekci lymfatických kanálů v mediální části parametria je nejdůležitější správné načasování aplikace modři, která po 15 minutách z kanálů mizí. Vysoká aktivita v oblasti paracervixu znemožňuje využití gama sondy v parametriu. Po exstirpaci modrého kanálu nebo modré či detekovatelné uzliny v mediální části parametria je třeba radioaktivitu uzliny potvrdit mimo operační

pole. V našem souboru konzervativních operací jsme zatím neměli případ falešné negativity v peroperační histopatologii (frozen section - FS). V šesti případech byla FS pozitivní a laparoskopie byla ukončena a z laparotomie byla provedena radikální operace v modifikaci Wertheim – Okabayashi. Detailní charakteristika šesti žen s pozitivním nálezem v sentinelové uzlině je v tabulce 13. Je zde ojedinělá pozitivita uzliny u ženy s karcinomem stadia T1a, kde indikací byla lymfangioinvaze v jedné cévě.

Tab. 12 – Peroperační a operační charakteristiky

- SLNM detekce
  12 žen SLNM - blue DR=100%, SSDR = 83,3%
  24 žen SLNM - blue+Tc DR=100%, SSDR = 94,5%
- Průměr SLN na jednu stranu - 1.5 uzliny (1-4)
- Falešná negativita SLN - 0
- Peroperační histologie (FS) - pozitivní - 6x (16,7%)
  - negativní - 30x (83,3%)
- Průměr odstraněných uzlin - 27,8 uzliny (14-48)
- Rekonizace jehlou - 9x (30,0%)
- Trachelektomie - 21x (70,0%)

Tab. 13. Charakteristika žen s pozitivními sentinelovými uzlinami

ID+věk	parita	Dg.	Histologie	FS	Lokalizace +	Pooperační histologie	Poop. léčba
SZ-35let	0/0	exsize	Adeno gr.2 5x4mm, angio -	+	SLN+ mediální parametrium	adenoca gr 2 reziduum 8x5 mm angio + , LN 36 -	RT CR
TL-26let	1/0	LETZ	Spino gr.1 6x7mm, angio +	+	SLN+ zevní ilika SLN+ supraobturator +1x LN non-sentinel	spino gr. 2 reziduum 2x2 mm angio +, LN 41 -	RT CR
KK-31let	1/1	LETZ	Spino gr. 1 1x1mm, angio +	+	SLN+ supraobturator	reziduum 0 LN 25 -	0 CR
DK-27let	1/1	excize	Spino gr.3 6x4mm, angio -	+	SLN + zevná ilika SLN + presakrální	spino gr. 3 reziduum 18x12 mm angio 0, LN 31 -	RT CR
PH-29let	0/0	excize	Spino gr. 3 8x3mm, angio -	+	SLN+ supraobturator	spino gr. 3 reziduum, 10x6 mm angio +, parametrium + LN 42 -	RT CR
SŠ-23let	0/0	excize	Adeno gr.1 6x4mm, angio-	+	SLN+ zevní ilika	reriduum 0 LN 31 -	RT –dop. odmítla recidiva

Onkologické výsledky jsou hlavním kriteriem bezpečnosti výkonů a používaných technik. Naše výsledky experimentálního protokolu méně radikálních operací odpovídají

výsledkům, které jsou u standardně prováděných radikálních operací. Z 36 žen byla u 6 žen (16,7 %) zjištěna pozitivita lymfatických uzlin. U jedné ženy byla po roce zjištěna suspektní cytologie s pozitivitou HPV-HR. Na přání ženy byla provedena hysterektomie, která potvrdila nález prekancerózy. U jedné ženy jsme diagnostikovali cytologicky suspektní nález a následnou recidivu v oblasti istmu. Recidivu jsme po konzervativních operacích zaznamenali v 3,3 %. Tato žena je po chemoradioterapii v kompletní remisi téměř 5 let. Žádná žena, u které byla provedena konzervativní operace – trachelektomie nebo rekonizace, nezemřela (Tab. 14).

Tab. 14. Onkologické výsledky

- 6x Wertheim (pozitivní SLN)
- 1x žena – follow up –HG SIL/HPV HR positivní - hysterektomie – rozhodnutí ženy (CIN II)
- 1x recidiva (14 měsíců) – istmická část dělohy – chemoradioterapie (52 měsíců CR)
- 28x zachována fertilita

Významným kriteriem úspěšnosti techniky u fertilitu zachovávajících postupů je schopnost žen otěhotnět (pregnancy rate), donosit těhotenství (pregnancy outcome) včetně zhodnocení počtu a rizika předčasných porodů. Do současné doby jsme u žen, které si přáli těhotenství dosáhli 70% úspěšnosti (pregancy rate), což je velice dobrým výsledkem (Tab. 15).

Tab. 15. Reprodukční výsledky (hodnoceno 12/2006)

- 28 žen zachována fertilita
- 20 žen si přeje těhotenství
- 18 těhotenství: 14 žen (70 % pregnancy rate)
- 10 dětí: 1 x 650g v 24. týdnu
  1 x 2240g v 34. týdnu
  1 x 2650g v 36. týdnu
  7 x v 37.-39. týden
  (1x IUI, 1x IVF)
- interupce (rozhodnutí ženy)
- 1 abdominální mimoděložní těhotenství
- 2 spontánní potrat v I.trimestru
- 2 spontánní potrat v II.trimestru
- 2 probíhající těhotenství (28 týden, 20 týden)

4.4. Diskuse

Koncepce konzervativních operací zachovávajících fertilitu u invazivních nádorů děložního hrdla vychází z pečlivé předoperační selekce vhodných kandidátek, adekvátní chirurgické radikality při odstranění regionálních pánevních lymfatických uzlin a resekce primárního nádoru s odpovídajícím lemem okolní zdravé tkáně. V současné době je shoda, že kvalitně provedené vyšetření tzv. volumometrie magnetickou rezonancí a případně doplněné i ultrazvukovou volumometrií, jsou nejvhodnější vyšetření pro stanovení rozsahu infiltrace děložního hrdla (27,44,48,65). Pánevní lymfadenektomie s detekcí sentinelových uzlin nebo bez ní je též nezbytnou součástí všech konzervativních fertilitu zachovávajících postupů (24,46,47,60, 61). Největší rozdíl mezi jednotlivými konzervativními postupy zachovávajícími fertilitu je v rozsahu a přístupu k resekci parametrií.

Rozsah resekce předních, laterálních a zadních parametrií (paracervixu) je v posledních 15 letech široce diskutován, nejen u konzervativních fertilitu zachovávajících operací (7,8,10,18,22,28,29,32,33,38,65). Od sedmdesátých let minulého století se respektovalo rozdělení radikálních operací dle Rutledge a Pivera (43). Za standardní operaci pro invazivní karcinomy včetně stadia IA2 se v 70. a 80. letech považovala kompletní resekce parametrií v rozsahu Rutledge-Piver typ III. Význam takto radikálních resekcí potvrzovala práce Burghardta a kol. (12), která jasně dokumentovala lokalizaci nádorového šíření do lymfatických uzlin v mediální i v laterální části parametrií. K histopatologickému vyšetření parametrií využili techniku „velkých" řezů. V následujících letech se celá řada prací zabývala rizikem postižení parametrií, které je popisováno v 6 až 31 % (7,10,18,22,28,32,66). Při detailním rozboru těchto prací jde většinou o soubory s poměrně objemnými a lokálně pokročilými nádory a minimem žen s nádory stadií IA2 a „malých" IB1, za které považujeme nádory v největším rozměru do 20 mm a invazí ne více než do poloviny stromatu hrdla. Řada prací potvrdila, že hloubka invaze nádoru do stromatu a objem nádoru koreluje s procentem postižení pánevních lymfatických uzlin i postižením parametrií (22,28,66). V devadesátých letech začala řada autorů obhajovat „modifikovanou" radikální hysterektomii. Hlavním cílem bylo snížit dlouhodobou morbiditu, která souvisí s radikálním odstraněním parametrií (8,29,33,38). Výsledky těchto prací, které však nebyly randomizované studie, neprokazují zhoršení prognózy u snížené radikality v parametriích u časných stadií cervikálních

karcinomů. Jediná prospektivní randomizovaná studie italské skupiny publikovaná Landonim srovnávala standardní radikální operace v rozsahu typu III a limitované resekce parametrií v rozsahu typu II. Tato studie též neprokázala u stadia IB rozdíl v procentu recidiv ani rozdíl v celkovém přežití, výrazný rozdíl v prospěch méně radikální resekce byl v dlouhodobé morbiditě zejména urologické (33).

Naše retrospektivní studie z roku 1998, která byla přílohou k zdůvodnění nového experimentálního chirurgického postupu méně radikálních fertilitu zachovávajících postupů, vyhodnotila riziko postižení resekovaných parametrií u žen po radikálních hysterektomiích typu III z let 1989 -1996. Zaměřili jsme se na ženy s negativními pánevními uzlinami a nádory stadia IA2 a IB1, které splňovaly kriteria pro „konzervativní" operace. Prvním kriteriem byl nádor do 20 mm v největším rozměru a druhým kriteriem infiltrace méně než poloviny stromatu a negativita uzlin ze systematické pánevní lymfadenektomie. V souboru 40 karcinomů IA2 a 85 karcinomů stadia IB1 z let 1989 až 1996, které vyhovovaly kriteriím, jsme nenalezli pozitivní nález v parametriích preparátu dělohy. V roce 2002 publikoval zatím největší retrospektivní studii Covens. U stadia IA2 a IB1 do 10 mm invaze u 536 žen s negativními pánevními uzlinami nalezl postižení parametrií v 0,6 % (17). Další retrospektivní studii u 125 žen po radikálních hysterektomiích publikovala Steed (62) a u žen po radikálních hysterektomiích s negativními pánevními uzlinami neprokázala pozitivitu v mediální části parametria. Naše výsledky jsou první prospektivní studií, která hodnotí riziko postižení parametrií ve vztahu k sentinelovým uzlinám a ostatním pánevním uzlinám. V prvním souboru „malých" karcinomů, které nepřesáhly 20 mm v největším rozměru a nepřesáhly polovinu infiltrace stromatu jsme u 11 (12,1 %) z 91 žen nalezli pozitivní sentinelové lymfatické uzliny. V jednom případě (1,2 %) jsme detekovali peroperačně sentinelovou pozitivní uzlinu v mediální části parametria při negativitě ostatních pánevních uzlin. V dalších dvou případech pozitivního nálezu v parametriu jsme vždy měli pozitivní pánevní sentinelovou uzlinu. Celkem jsme v této prognosticky příznivé skupině detekovali postižení parametria ve třech případech (3,3 %). V případě pozitivity sentinelové uzliny (11 žen) je však riziko postižení parametrií (27,3 %). Nezaznamenali jsme případ, kdy by byla negativní sentinelová uzlina a pozitivní nález v parametriu. V souboru jsme neměli při užití kombinace radiokoloidu technetia a patentové modři falešně negativní sentinelovou uzlinu.

Ve druhé skupině časných nádorů v rozměru nad 20 mm ale nepřesahující 30 mm v největším rozměru a nebo infiltrací stromatu nepřesahující 2/3 jsme detekovali u 14

(20,9 %) z 67 žen pozitivní sentinelové uzliny. V této skupině jsme také pouze v jednom případě (1,9 %) detekovali peroperačně sentinelovou pozitivní uzlinu v mediální části parametria při negativitě ostatních pánevních uzlin. V dalších třech případech pozitivního nálezu v parametriu jsme vždy měli pozitivní pánevní sentinelovou uzlinu. Celkem jsme v této prognosticky relativně příznivé skupině detekovali postižení parametria ve čtyřech případech (6 %). V případě pozitivity sentinelové uzliny (14 žen) je však riziko postižení parametrií (28,6 %).

V celém souboru jsme neměli falešně negativní sentinelovou uzlinu a senzitivita dosáhla 100 %. Naše práce jasně ukazuje, že riziko postižení v parametriích je zcela minimální u cervikálních karcinomů s infiltrací stromatu méně než 2/3 u žen s negativní sentinelovou uzlinou. Naopak riziko postižení parametrií v případě pozitivity sentinelové uzliny je vysoké v obou skupinách (27,3 % a 28,6 %). Rozdíl v postižení parametrií v případě SLN pozitivních a SLN negativních žen je statisticky vysoce významný P=0,001. Tato práce potvrzuje klinický význam peroperačního a definitivního vyhodnocení sentinelových uzlin, což umožňuje poměrně bezpečnou redukci radikality resekce parametrií u žen s negativními sentinelovými uzlinami.

Pro experimentální protokol konzervativnějších operací, než je radikální vaginální trachelektomie jsme stanovili stejná indikační kriteria jako byla pro radikální vaginální trachelektomie. Zásadní odlišností byl postup ve „dvou fázích" a opuštění částečné vaginálně prováděné resekce mediální části parametria. V první fázi je důležitým krokem správné časování aplikace radiokoloidu technecia a patentové modři. Radiokoloid je pro detekci sentinelových uzlin senzitivnější (3,36,37,41,52,63). Patentová modř aplikovaná v době laparoskopické vizualizace lymfatických kanálů v mediální části parametria je pro detekci případných uzlin v mediální části parametria klíčová. V paracervixu nelze využít měření radioaktivity sondou, neboť perzistující cervikální aktivita po aplikaci radiokoloidu znemožňuje měření aktivity. Pokud nalezneme v průběhu modrého lymfatického kanálu v mediální části parametria lymfatickou uzlinu, její aktivitu je nutno měřit až po její exstirpaci (52). Peroperační vyšetření mrazeným řezem (FS) sentinelových uzlin považujeme za důležitou součást experimentálního protokolu. V souboru konzervativních operací jsme ještě neměli falešně negativní výsledek FS. Některá pracoviště zpochybňují senzitivitu a význam peroperační histologie (20,62). Naše zkušenosti s 230 FS u karcinomů hrdla a 55 FS u karcinomů vulvy ukazují, že nezachytíme 12 % mikrometastáz, které odhalí až definitivní sériové zpracování sentinelové uzliny. V tomto velkém souboru jsme pomocí peroperační FS zachytili

všechna metastatická ložiska větší než 2 mm. Peroperační histologie nám dovoluje okamžitě ukončit laparoskopickou operaci a konvertovat nález na laparotomicky provedenou radikální operaci. V našem souboru jsme v 6 případech (16,7 %) konvertovali a provedli radikální hysterektomii. Vaginální část operace odkládáme o týden na dobu, kdy známe definitivní histologii z kompletní lymfadenektomie a sériového zpracování sentinelových uzlin. Vzhledem k experimentálnímu charakteru protokolu považujeme tento postup za bezpečnější, protože vylučuje riziko přehlédnutí mikrometastázy peroperační histologií.

Onkologické výsledky jsme hodnotili v odstupu 3 až 95 měsíců s mediánem 41 měsíců. Z třiceti hodnotitelných žen jsme zaznamenali u jedné recidivu (3,3 %) v oblasti istmu. Po chemoradioterapii byla v době hodnocení 52 měsíců v kompletní remisi, žádná žena nezemřela. Tyto výsledky jsou srovnatelné s výsledky vaginálních radikálních trachelektomií, (17,44) i radikálních operací s úplnou resekcí parametrií (12,33,66). Z šesti žen s pozitivními uzlinami jsme u jedné diagnostikovali recidivu. Tato žena odmítla pooperačně navrženou adjuvantní chemoradioterapii. Generalizace v době diagnostiky byla v oblasti pánve. Ostatní ženy s pozitivními uzlinami byly v době hodnocení v kompletní remisi (83 %).

Zásadní otázkou zůstává, zda je redukce resekce parametrií pro ženy onkologickým rizikem. Při standardně prováděné radikální vaginální trachelektomii je snaha o zachování uterinní arterie, to však zároveň limituje rozsah resekce parametrií. Plante a Roy u 73 vaginálních radikálních trachelektomiích neměli pozitivní nález v resekovaném parametriu (44). Covens neměl pozitivní nález u 65 radikálních trachelektomiích (17), Dargent měl pozitivní nález pouze v prvním období kdy prováděl radikální trachelektomie i u nádorů nad 3 centimetry (osobní sdělení). V naší modifikaci trachelektomie odstraňujeme laparoskopicky z mediální části parametria pouze lymfatické kanály a případně detekovatelné uzliny, vaginální operace resekuje pouze odpovídající část děložního hrdla. Tento postup výrazně redukuje radikalitu resekce parametrií u časných stadií cervikálních karcinomů, přesto jsou onkologické výsledky srovnatelné se standardní radikální operací.

Reprodukční výsledky našeho souboru jsou relativně dobré a 70 % žen, které si přály otěhotnět, otěhotnělo (fertility rate 70%). Z 18 těhotentství 9 žen porodilo 10 dětí a v době vyhodnocení výsledků studie k prosinci 2006 jsme měli další dvě probíhající těhotenství. Riziko jak u radikální, tak i u simplexní trachelektomie představují předčasné porody, a to zejména v druhém trimestru. Naše publikované výsledky týkající

se těhotenství jsou spolu se skupinou Plante-Roy zatím ze všech postupů nejlepší (44,48). Za nejvýznamnější faktor pro otěhotnění (fertility rate) považujeme minimalizaci poškození inervace z pánevního plexu, která je zodpovědná za motilitu a normální funkci vejcovodu. Ze současně používaných postupů je jasné, že největší poškození způsobuje radikální abdominální trachelektomie nebo se stejnou radikalitou provedená kompletní laparoskopická radikální trachelektomie. Poměrně malý počet spontánních i donošených těhotenství to potvrzuje (3,24,61,63). Druhým významným faktorem je riziko pooperační stenózy cervikálního kanálu. V našem souboru jsme měli pouze v jednom případě klinicky významnou stenózu po hluboké rekonizaci. Po simplexní trachelektomii s technikou sutury kdy je okraj pochvy přišit na zevní okraj endocervikální kličkové excize jsme zatím nezaznamenali klinicky významnou stenózu endocervikálního kanálu. Vytětí endocervikálního kanálu kličkou zvětšuje endocervikální rozsah excize, zvyšuje bezpečnost výkonu, šetří stroma a umožňuje následnou suturu defektu s minimálním rizikem stenózy (48).

Dalším významným problémem konzervativních fertilitu zachovávajících operací je riziko předčasných porodů (39,44,56,57). Toto riziko je tím vyšší, čím méně stromatu hrdla zachováme. V současné době se vedou diskuse o mechanizmu ztrát v II. trimestru a předčasných porodech. Ve většině případů jde o důsledek infekce, kdy zkrácené hrdlo není dostatečnou bariérou pro vstup ascendentních infekcí. V našem souboru jsme zavedli profylaktickou sanaci poševního prostředí od 2. porodu v našem souboru. Do té doby jsme měli jeden případ extrémní prematurity po předčasném odtoku (24. týden – 650g) a jeden spontánní potrat v 22. týdnu také v důsledku chorioamniitidy. Po zavedení tohoto postupu jsme zaznamenali pouze jednu druhotrimestrovou ztrátu, ostatní těhotenství lze hodnotit z perinatologického rizika jako nekomplikovaná, neboť všechna skončila s porodní váhou nad 2 240 gramů. Tento postup je dnes standardním u nás a v Londýnském centru (57) a doporučuje jej i Plante (45). Jaký je nezbytný rozměr lemu zdravé tkáně stromatu hrdla? Sami preferujeme, aby amputace byla vedena se snahou být minimálně 7-10 mm nad intracervikální částí nádoru. V našem souboru byl ve dvou případech okraj menší než 5 mm. Obě ženy nesouhlasili s radikálním řešením, obě jsou dnes 45 a 58 měsíců bez známek onemocnění. Naopak, naše jediná pacientka s recidivou v oblasti istmu neměla v preparátu trachelektomie po předchozí LETZ žádný nádor. Malý počet recidiv ve všech souborech trachelektomií nedovoluje exaktní odpověď na tuto otázku.

4.5. Závěr

U časných stadií cervikálních karcinomů s infiltrací menší než do poloviny stromatu a negativními sentinelovými uzlinami je metastatické postižení do parametrií zcela raritní. Naopak, v případě nádorových metastáz v sentinelových uzlinách je riziko postižení mediální části parametrií poměrně vysoké. Předložené výsledky rizika postižení parametrií a sentinelových uzlin jsou první prospektivní studií, která potvrzuje retrospektivní data. Z těchto výsledků vychází i koncepce méně radikálních postupů u fertilitu zachovávajících operací. U žen s negativitou sentinelových uzlin a negativitou ostatních pánevních uzlin považujeme u stadia IA2 hlubokou konizaci a u nádorů stadia IB1 s infiltrací menší než polovina stromatu simplexní trachelektomii za bezpečný výkon. Postup ve dvou krocích (laparoskopická operace a vaginální operace) zvyšuje bezpečnost konzervativních, fertilitu zachovávajících postupů. Onkologické výsledky našeho experimentálního protokolu jsou srovnatelné s radikálnějšími postupy resekující parametria, při minimální morbiditě. Počty úspěšných těhotenství i počty porodů řadí tento postup k nejúspěšnějším.

5. Souhrn

Úvod

V posledních 20 letech se v České republice výrazně zvyšuje věk prvorodiček a současně stále více žen odkládá těhotenství po třicátém roce života. To vede k nárůstu počtu žen, u nichž diagnostikujeme v těhotenství těžký stupeň squamózní intraepiteliální léze (HG SIL) nebo mikroinvazivní karcinom (MiCa) děložního hrdla. Stejně tak narůstá skupina žen s diagnostikovaným invazivním nádorem děložního hrdla, které ještě nerodily nebo plánují další těhotenství. První část práce se zabývá možnostmi využití méně radikálních postupů a vyhodnocuje rizika konzervativních, observačních postupů v těhotenství u žen s těžkými prekancerózami a riziko konizace v těhotenství u nálezů podezřelých z počínající invaze. Druhá část práce vyhodnocuje riziko postižení parametrií a experimentální postup méně radikálních operací prováděných u invazivních karcinomů děložního hrdla jejichž cílem je zachovat fertilitu.

Část I

Soubor a metody

Do prospektivní studie bylo zařazeno 130 žen do 20. týdne gravidity se suspektní HG SIL nebo mikroinvazivním karcinomem. U 103 žen byla provedena punch biopsie z kolposkopicky nejsuspektnějších míst (1-3 biopsie), u 27 žen byla provedena konizace k vyloučení mikroinvaze. Souhlas se studií předpokládal u všech žen kontroly minimálně 2 roky po porodu. Statisticky byla vyhodnocena korelace mezi cytologií a expertní kolposkopií, vyhodnoceny rizika biopsií a konizací.

Výsledky

U 82 žen byla HG SIL histologicky potvrzena do 20. týdne těhotenství punch biopsií. V polovině případů nález regredoval do dvou let po porodu. U 18 žen (22,0 %) došlo k regresi nálezu do normální cytologie a normalizaci kolposkopického nálezu, u 4 žen přetrvávala pouze HPV HR pozitivita. U 23 žen (28,0 %) došlo k regresi nálezu na LG SIL. Nález u 7 žen (8,5 %) progredoval do stadia IA1. V žádném případě jsme nezaznamenali po punch biopsii krvácení, které by vyžadovalo následný chirurgický zákrok.

Ve 27 případech byla mezi 13. a 23. týdnem těhotenství provedena konizace, neboť prebioptický nález signalizoval možnost počínající invaze. V 8 případech (29,6%)

jsme diagnostikovali počínající invazi, mikrokarcinom stadia IA1. Korelace prebioptických metod cytologie a kolposkopie k výsledku histologie (mikroinvazi) nevyznívá pro prebioptické metody příznivě. Pro kolposkopii je citlivost 71,4%, specifita 30%, PPV 26,3 a NPV 75%. Míra shody obou testů je nízká pouze 40,7% co je vyjádřeno korelačním koeficientem Kappa 0,009. Pro cytologii je citlivost 84,6% specifita 42,9%, PPV 57,9% a NPV 75%. Míra shody obou testů je 63% a Kappa 0,27.

Závěr

U správně diagnostikovaných HG SIL v první polovině těhotenství lze u plně poučené a spolupracující ženy považovat neinvazivní, observační postup v průběhu těhotenství a v poporodním období za bezpečný. 50 % regresí po porodu je poměrně vysoké číslo. Existuje však přibližně 10 % riziko progrese do mikrokarcinomu, o němž musí být žena poučena.

Při nejistotě o počínající invazi je do 24. týdne těhotenství indikována konizace. Míra shody prebioptického odhadu cytologie a kolposkopie pro počínající invazi je nízká. Citlivost i specifita cytologie je lepší než kolposkopie, která častěji nadhodnocuje nálezy. Konizace jehlou nebo LETZ provedená v naší modifikaci má minimální riziko peroperačních komplikací a časných pooperačních komplikací.

Část II.

Soubor a metody

Pro vyhodnocení rizika a vztahu mezi nádorovým postižením sentinelových uzlin a parametrií jsme použili prospektivní studii mapování sentinelových uzlin s použitím kombinace radiokoloidu technecia a patentové modři u 158 radikálně operovaných žen s časným stadiem invazivních karcinomů s infiltrací stromatu méně než 2/3. Výsledky jsme statisticky vyhodnotili. Do experimentálního protokolu konzervativních dělohu zachovávajících operací bylo od ledna 1999 do prosince 2006 zařazeno 36 žen (2 ženy TIA1, 8 žen T1A2 a 26 žen T1B1). Vyhodnoceny u experimentálního postupu onkologické a porodnické výsledky.

Výsledky

U žádné z 133 žen s negativními sentinelovými uzlinami jsme nezjistili pozitivní nález v parametrích. Z 25 žen s pozitivními sentinelovými uzlinami byl pozitivní nález v parametriu u 7 žen (28,0%). Tento rozdíl je vysoce statisticky významný P<0.0001 (OR 71.63, 95% CI 3.81-1345.4).

Onkologické výsledky jsou hlavním kriteriem bezpečnosti výkonů a používaných technik. Naše výsledky experimentálního protokolu méně radikálních operací odpovídají výsledkům, které jsou u standardně prováděných radikálních operací. Z 36 žen byla u jedné ženy zjištěna recidiva (3,3 %). Tato žena je po chemoradioterapii v kompletní remisi 5 let. V našem protokolu otěhotnělo 70 % žen (pregnancy rate), donosilo těhotenství 67 % žen (pregnancy outcome).

Závěr

U časných stadií cervikálních karcinomů s infiltrací menší než do poloviny stromatu a negativními sentinelovými uzlinami je metastatické postižení do parametrií zcela raritní. Naopak, v případě nádorových metastáz v sentinelových uzlinách je riziko postižení mediální části parametrií poměrně vysoké. Předložené výsledky rizika postižení parametrií a sentinelových uzlin jsou první prospektivní studií, která potvrzuje retrospektivní data. Z těchto výsledků vychází i koncepce méně radikálních postupů u fertilitu zachovávajících operací. U žen s negativitou sentinelových uzlin a negativitou ostatních pánevních uzlin považujeme u stadia IA2 hlubokou konizaci a u nádorů stadia IB1 s infiltrací menší než polovina stromatu simplexní trachelektomii za bezpečný výkon. Postup ve dvou krocích (laparoskopická operace a vaginální operace) zvyšuje bezpečnost konzervativních, fertilitu zachovávajících postupů. Onkologické výsledky našeho experimentálního protokolu jsou srovnatelné s radikálnějšími postupy resekující parametria, při minimální morbiditě. Počty úspěšných těhotenství i počty porodů řadí tento postup k nejúspěšnějším ze všech fertilitu zachovávajících postupů.

6. Summary

Introduction

There has been substantial increase in the age of the first delivery during last 20 years. More and more women plan pregnancy after their thirties at the same time. Therefore there is increasing number of high grade squamous intraepithelial lesions (HG SIL) or microinvasive carcinomas (MiCa) diagnosed in pregnancy. In the same way there is more women diagnosed with invasive cervical cancer that have not fulfilled their reproductive plans. In the first part of our work we try to analyze possibilities of less radical procedures involvement and evaluate risks of conservative, not-to-treat policy during pregnancy in women with high grade lesions and the risks of conisation performed in pregnancy in cases suspicious of early invasion. In the second part of our work we try to asses the risk of parametrial involvement and experimental less radical fertility sparing procedures performed in invasive uterine cervix cancer.

Part I

Patients and methods

130 women till 20 gestational week with suspected HG SIL or microinvasive carcinoma were included into the study. In 103 women punch biopsy was performed from colposcopicaly suspected locations (1-3 biopsies), In 27 women conisation was performed to rule out microinvasion. Follow up of minimum 2 years after successful delivery has been stated in the informed consent. Correlation between cytology and expert colposcopy was evaluated statistically. Risks of biopsies and conisations in pregnancy were assessed.

Results

HG SIL was histologicaly confirmed till 20. gestation week in 82 women. In half of the patients lesion regressed within 2 years. Normal cytology and normal colposcopy was present in 18 women (22%). In 4 cases only HPV positivity persisted. Regression to LG SIL took place in 23 women (28%). In 7 cases (8.5%) there was progression to IA1 stage. There was no case of excessive bleeding requiring surgery reported following the punch biopsy.

Between 13. till 23. gestational weeks conisation was performed In 27 cases since prebioptic examination suspected early invasion. In 8 cases (29,6%) early invasion was confirmed (IA1 stage). Correlation of prebioptic methods (cytology and colposcopy) with the histology finding (microinvasion) is not favorable for prebioptic methods. Colposcopy

achieves sensitivity of 71,4% and specificity of 30%, PPV 26,3 and NPV 75%. Agreement of both tests is only 40.7% expressed in correlation coeficient Kappa 0.009. Cytology reached sensitivity of 84,6%, specificity 42,9 %, PPV 57,9% and NPV 75%. Agreement of both tests is 63% and Kappa 0.27

Conclusion

Fully educated and cooperative patient with correctly diagnosed HG SIL in first half of the pregnancy could be subjected to the not-to-treat, observational attitude in the course of pregnancy and in the postpartum period. This approach is considered safe and effective. 50% of regression post-partum is relatively high figure. However there is approximately 10% risk of progression to microcarcinoma that the women should be aware of.

In case of uncertainty about the early invasion till 24. week of gestation conisation is indicated. Agreement between prebioptic estimation by cytology and colposcopy for early invasion is low. Conisation with needle or LETZ performed in our modification carries minimal risks of peroperative and early postoperative complications.

Part II.

Patients and Methods

Prospective study for sentinel node mapping with use of radiocolloid Technetium and Patent blue dye in 158 women treated with radical surgical procedure with early stages of invasive cancer with less than 2/3 of stromal invasion was employed to evaluate correlation between sentinel node and parametrial involvement. Results were statistically assessed. There were 36 women included into experimental fertility sparing protocol in the period from January 1999 till December 2006 (2 T1A1, 8 T1A2, 26 T1B1). Oncological and perinatal outcome was evaluated.

Results

No case of 133 women with negative sentinel nodes there was parametrial involvement present. In 25 cases with positive sentinel nodes parametrial involvement was detected in 7 cases (28%). This difference is statistically significant ($p<0.0001$, OR 71.63, 95%CI 3.81-1345, 4).

Oncological outcome was the main criterion for the safety assessment. Results of our experimental protocol of less radical surgical procedures do not differ significantly from the standard radical procedures. In 36 women there was only one recurrence reported (3, 3%) This woman underwent chemotherapy and is for 5 years in complete remission. 70% women in our study get pregnant and successfully delivered 67% of them.

Conclusion

In early stages of cervical cancer with less than half of the stromal invasion and negative sentinel nodes the metastatic parametrial involvement is very rare. On the contrary; in the case of sentinel node involvement parametrial invasion is very common. Presented results of the risk of parametrial and sentinel node involvement are first prospective data confirming retrospective reports. Hence less radical fertility sparing approach is based on this information. In women with negative sentinel node and negative pelvic lymph node dissection in stage IA2 deep conisation and in IB1 tumors with less than half of the stromal invasion simple trachelectomy is considered safe procedure in our opinion. Two step approach (laparoscopy and vaginal surgery) increases safety of conservative fertility sparing procedures. Oncological results of our experimental protocol are comparable to more radical procedures with parametrial resection with less morbidity at the same time. Pregnancy rates and take home baby rates make these procedures most successful of all fertility saving protocols.

7. Literatura

1. Aburel, E. Colpohisterectomia largita subfundica. In Sirbu, P. Chirurgica gynecologica. Bucharest. Romania. Editura Medicala Pub., 1981, p. 714-721.

2. Abu – Rustum, NR., Sonoda, Y., Black D. et al. Fertility –sparing radical abdominal trachelectomy for cervical carcinoma: Technigue and review of the literature. Gynecol. Oncol., 2006, 103, p. 807-813.

3. Andou, M. Function–preserving surgery for early invasive cancer of the cervix: total laparoscopic radical trachelectomy and nerve–sparing technique. International Symposium on Radical Hysterectomy Dedicated to Hidekazu Okabayashi, 2007, Abstract book, p. 121-122.

4. Averette, HE., Nasser, N., Yankow, SL., Little, WA. Cervical conization in pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol., 1970, 106, p. 543-549.

5. Bartoš, P., Zelenka, Z., Popelka, P. Radikální trachelektomie v léčbě časného cervikálního karcinomu. Čes. Gynek., 2000, 65, p. 437-442.

6. Benedet, JL., Selke, PA., Nickerson, KG. Colposcopic evaluation of Papanicolaou smears in pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol., 1987, 157, p. 932-937.

7. Benedetti-Panici, P., Maneschi, F., D´Andrea, G., et al. Early cervical carcinoma: the natural history of lymph node involvement redefined on the basis of thorough parametectomy and giant section study. Cancer, 2000, 88, p. 2267-2274.

8. Benedetti-Panici, P., Angioli, R., Palaia, I., et al. Tailoring the parametrectomy in stages IA2-IB1 cervical carcinoma: is it feasible and safe? Gynecol. Oncol., 2005, 96, p. 792-798.

9. Bernardini, M., Barrett, J., Seaward, G. et al. Pregnancy outcomes in patients after radical trachelectomy. Am. J. Obstet. Gynecol., 2003, 189, p. 1378-1382.

10. Bleker, OP., Ketting BW., van Wayjen-Eecen, B. et al. The significance of microscopic involvement of the parametrium and/or pelvic lymph nodes in cervical cancer stages Ib and IIa. Gynecol. Oncol., 1983, 16, p. 56-62.

11. Burghardt, E., Pickel, H. Local spread and lymph node involvement in cervical cancer. Obstet. Gynecol., 1978, 52, p. 138-145.

12. Burghardt, E., Pickel, H., Haas, J. et al.. Prognostic factors and operative treatment of stages Ib-IIb cervical cancer. Am. J. Obstet. Gynecol. 1987, 156, p. 988-996.

13. Burnett, AF., Roman, LD., O´Meara, AT. et al. Radical vaginal trachelectomy and pelvic lymphadenectomy for preservation of fertility in early cervical carcinoma. Gynecol. Oncol., 2003, 88, p. 419- 423.

14. Cibula, D., Ungár, L., Svárovský J. et al. Abdominální radikální trachelektomie – technika a zkušenosti. Čes. Gynek., 2005, 70, p. 117-122.

15. Cibula, D., Ungár, L., Palfalvi L. et al. Laparoscopic abdominal radical trachelectomy. Gynecol. Oncol., 2005, 97, p. 707-709.

16. Coppola, A., Sorosky, J., Casper, R. et al. The clinical course of cervical carcinoma in situ diagnosed during pregnancy. Gynecol. Oncol., 1997, 67, p. 162 –165.

17. Covens, A., Shaw, P., De Petrillo, J. et al. Is radical trachelectomy a safe alternative to radical hysterectomy for patient with stage IA-B carcinoma of the cervix? Cancer, 1999, 86, p. 2273-2279.

18. Covens, A., Rosen, B., Murény, J. et al. How important is removal of the parametrium at surgery for carcinoma of the cervix? Gynecol. Oncol., 2002, 84, p.145-149.

19. Dargen, D., Brun, JL., Roy, M. et al. Pregnancies following radical trachelectomy for invasive cervical cancer. Gynecol. Oncol., 1994, 52, p. 105 (Abstract).

20. Dargent, D., Martin, X., Sacchetoni, A. et. al. Laparoscopic vaginal radical trachelectomy: a treatment to preserve the fertility of cervical carcinoma patients. Cancer, 2000, 88, p. 1877-1882.

21. Dargent, D.. Radical abdominal trachelectomy and pelvic lymphadenectomy with uterine conservation and subsequent pregnancy in the treatment of early cervical carcer (letter). Am. J. Obstet. Gynecol., 2002, 187, p. 1728-1729.

22. Delgado, G., Bundy, GN., Fowler, WC. et al. A prospective surgical pathological study of stage I squamous carcinoma of the cervix: a Gynecology Oncology Group study. Gynecol. Oncol., 1989, 35, 3, p. 314-320.

23. Economos, K., Perez Veridiano, N., Delke, I. et al. Abnormal cervical cytology in pregnancy: a 17-years experience. Obstet. Gynecol., 1993, 81, p. 915 –918.

24. Fukuchi, T.. Abdominal radical trachelectomy. International Symposium on Radical Hysterectomy Dedicated to Hidekazu Okabayashi, 2007, Abstract book, p. 119-120.

25. Girardi, G., Lichtenegger, W., Tamussino, K. et al. The importace of parametrial lymph nodes in the treatment o cervical cancer. Gynecol. Oncol.1989, 34, 2, p. 206-211.

26. Hannigan, EV., Whitehouse, HH., Atkinson, WD. et al.. Cone biopsy during pregnancy. Obstet. Gynecol. 1982, 60, p. 450-455.

27. Chou, ChY., Hsu, KF., Wang, ShT. et al. Accuracy of tree-dimensional ultrasonography in volume estimation of cervical carcinoma. Gynecol. Oncol., 1997, 66, p. 89-93.

28. Inoue. T.. Prognostic significance of the depth of invasion relating to nodal metastase, parametrial extension, and cell types. A study of 628 cases with stage Ib, Iia and Iib cervical carcinoma. Cancer, 1984, 54, 2, p. 3035-3042.

29. Kinney, WK., Hodge, DO., Egorshin, EV.et al. Identification of low risk subret of patiens with stages Ib invasive squamous cancer of the cervix possibly suited to less radical surgical treatment. Gynecol. Oncol. 1995, 57,.1, p. 3-6.

30. Kohan, S., Beckman, EM, Bigelow, B. et al. The role of colposcopy in the management of cervical intraepithelial neoplasia during pregnancy and postpartum. J. Reprod. Med., 1980, 25, p. 279 –284.

31. Kyrgiou, M., Koliopoulos., G., Martin-Hirch P. et al. Obstetrics outcomes after conservative treatment for intraepithelial or invasive cervical lesions: systematic review and meta-analysis. Lancet , 2006, 367, p. 489-498.

32. Landoni, F., Bocciolone, L., Pereno, P. et al. Cancer of cervix, FIGO stages I band Iia: patterns of local growth and paracervical extension. Int. J. Gynecol. Oncol., 1995, 5, 5, p. 329-334.

33. Landoni, F., Maneo, A., Cormio, G. et al.. Class II versus class III radical hysterectonomy in stage Ib-Iia cervical cancer: a prospective randomised study. Gynecol. Oncol., 2001, 80, p. 3-12

34. Levenback, C., Coleman, RL., Burke, TW. et al. Lymphatic mapping and sentinel node identification in patients with cervix cancer undergoing radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy. J. Clin. Oncol., 2002, 20, p. 688-693.

35. Malone, JM., Sokol, RJ., Ager, JW.. Pregnancy, human papillomavirus and cervical intraepithelial neoplasia. Eur. J. Gynaecol. Oncol., 1988, 9, p. 120-124.

36. Malur, S., Krause, N., Kohler, C. et al. Sentinel lymph node detection in patients with cervical cancer. Gynecol. Oncol., 2001, 80, p. 254–257.

37. Marnitz, S., Kohler, Ch., Bongardt, S. et al. Topographic distribution of sentinel lymph nodes in patients with cervical cancer. Gynecol. Oncol., 2006, 103, p. 35-44.

38. Margina, JF., Goodrich, MA., Weaver, AL.. Modified radical hysterectomy: morbidity and mortality. Gynecol. Oncol. 1995, 59, 2, p.277-282.

39. Mathevet, P., de Kaszon, EL., Dargent, D. Fertility preservation in early cervical cancer. Gynecol. Obstet .Fertil., 2003, 31, 9, p. 706-712.

40. Novotvary. 2003, ÚZIS, NOR, Praha, 2006

41. O´Boyle, JD., Coleman, RL., Bernstein, SG. et al.. Intraoperative lymphatic mapping in cervix cancer undergoing radical hysterectomy: a pilot study. Gynecol. Oncol., 2000, 79, p. 238-243.

42. Petignat, P., Stan, C., Megevand, E. et al. Dargent D. Pregnancy after trachelectomy: a high-risk condition of preterm delivery. Report of a case and review of the literature. Gynecol. Oncol., 2004, 94, p. 575-577.

43. Piver, S., Rutledge, F., Smith, JP et al. Five classes of extended hysterectomy. Am. J. Obstet. Gynecol., 1974, 44, p. 265-272.

44. Plante, M., Renaud, MC., Francois, H., et al. Vaginal radical trachelectomy: an oncologically safe fertility – preserving surgery. An update series of 72 cases and review on the literature. Gynecol. Oncol., 2004, 94, p. 614-623.

45. Plante, M., Renaud, MC., Hoskins, IA. et al. Vaginal radical trachelectomy: A valuable fertility-preserving option in the management of early – stage cervical cancer. A series of 50 pregnancies and review of the literature. Gynecol. Oncol ., 2005, 98, p. 3-10.

46. Plante, M., Renaud, MC., Tetu, B. et al.. Laparoscopic sentinel node mapping in early-stage cervical cancer. Gynecol. Oncol., 2003, 91, p. 494-503.

47. Rob, L., Charvát, M., Robová, H. et. al. Sentinel lymph node identification (SLNI) in the management of conservative surgery in early cervical cancer: Is it acceptable ? Gynecol. Oncol., 2005, 99, p.147-148.

48. Rob, L., Charvát, M., Robová, H. et al. Less radical fertility – sparing surgery than radical trachelectomy in early cervical cancer. Int. J. Gynecol. Cancer. 2007, 17, p. 304-310.

49. Rob L., Charvát M., Robová H. et al. Fertilitu zachovávající operace u časného stadia karcinomu děložního hrdla dnes a zítra. Čes. Gynek. 2006, 71, p. 303-307.

50. Rob, L.. Komentář - Radikální trachelektomie jako metoda zachovávající fertilitu u časných stadií zhoubných nádorů děložního hrdla. Gynek. po promoci, 2001, p. 28-35.

51. Rob, L., Pluta, M., Strnad, P. et al. Sentinel node identification in uterine cervix cancer stage I. A pilot study. Gynecol. Oncol. 2002, 84, p. 521.

52. Rob, L., Strnad, P., Robová, H., et al. Study of lymphatic mapping and sentinel node identification in early stage cervical cancer. Gynecol. Oncol., 2005, 98, p. 281-288.

53. Rob, L., Svoboda, B., Robová, H. et al.: Guideline gynekologických zhoubných nádorů – standard – Primární komplexní léčba operabilních stadií zhoubných nádorů děložního hrdla, Čes. Gynekol. 2004, 69, p. 376 – 384

54. Robinson, WR., Webb, S., Tirpack, J. et al. Management of cervical intraepithelial neoplasia during pregnancy with LOOP excision. Gynecol. Oncol., 1997, 64, p. 153-155.

55. Robová, H., Rob, L., Pluta, M. et al. Squamous intraepithelial lesion – microinvasive carcinoma of the cervix during pregnancy. European J. Gynaecol. Oncol., 2005, 26, p. 611-614

56. Roman, LD.. Pregnancy after radical vaginal trachelectomy: Maybe not such a risky undertaking after all. Gynecol. Oncol ., 2005, 98, p. 1-2.

57. Shepherd, JH., Mould, T., Oram, DH. Radical trachelectomy in early stage carcinoma of the cervix: outcome as judged by recurrence and fertility rates. Br. J. Obstet. Gynecol., 2001, 108, p. 882-885.

58. Shepherd, JH.. Development in the Surgical Management of Cervical Cancer: Fertility paring surgery for early stage disease. International Symposium on Radical Hysterectomy Dedicated to Hidekazu Okabayashi, 2007, Abstract book, p. 118.

59. Schlaerth, JB., Spirtos, NM., Schlaerth, AC.. Radical trachelectomy and pelvic lymphadenectomy with uterine preservation in the treatment of cervical cancer. Am. J. Obstet. Gynecol ., 2003, 188 p. 29-34.

60. Smith, JR., Boyle, DCM., Corless, DJ. et al. Abdominal trachelectomy. A new surgical technique for the conservative management of cervical carcinoma. Br. J. Obstet. Gynecol., 1997, 104, p. 1196-1200.

61. Smith, MCG., Ungar, L., Pálfalvi, L. : Update and long term follow-up 91 cases of abdominal radical trachelectomy (ART): Syllabus, Postgraduate course 7, SGO, 38 Annual Meeting, 2007, p 1-3.

62. Steed, H., Capstick, V., Schepansky, L. et al. Early cervical cancer and parametrial involvement:Is it significant? Gynecol. Oncol. 2006, 103, p. 53-57

63. Ungár, L., Pálfalvi, L., Hogg, R. et al.: Abdominal radical trachelectomy: a fertility – preserving option for women with early cervical cancer. Br. J. Obstet. Gyneco.l 2005, 112, p. 366-369.

64. Van Dam, PA., Hauspy, J., Vanderheyden, T., 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, p. 182-186.

65. Wagenaar, HC., Trimbos, JB., Postema, S. et al. Tumor diameter and volume assessed by magnetic resonance imaging in the prediction of the outcome for invasive cervical cancer. Gynecol. Oncol. 2003, 82, p. 474-482.

66. Winter, R., Haas, J., Reich, O. et al. Parametrial spread of cervical cancer in patients with negative pelvic lymph nodes. Gynecol. Oncol. 2004,14, 5, p. 832-840.

67. Yost, NP., Santoso, JT., McIntire, DD et al. Postpartum regression rates of antepartum cervical intraepithelial neoplasia II and III lesions. Obstet. Gynecol. 1999, 93, p. 359-362.

8. Seznam prací publikovaných k tématu dizertační práce

1. **Robová, H.**, Rob, L., Pluta, M., Kačírek, J., Strnad P., Halaška M., Schlegerová D. Squamous intraepithelial lesion – microinvasive carcinoma of the cervix during pregnancy. European J. Gynaecol. Oncol., 2005, 26, p. 611-614 **(IF – 0.591)**

2. Rob, L., Charvát, M., **Robová, H.,** Strnad, P., Pluta, M., Hrehorčák, M., Schlegerová D. Sentinel lymph node identification (SLNI) in the management of conservative surgery in early cervical cancer: Is it acceptable ? Gynecol. Oncol., 2005, 99, p.147-148 **(IF – 2.251)**

3. Rob, L., Strnad, P., **Robová, H.,** Charvát, M., Pluta, M., Schlegerová. D., Hrehorčák, M. Study of lymphatic mapping and sentinel node identification in early stage cervical cancer. Gynecol. Oncol., 2005, 98, p. 281-288 **(IF – 2.251)**

4. Tachezy, R., Mikyšková I., Ludvíková, V.,Rob, L., Kučera, T., Slavík, V., Beková, A., **Robová, H.,** Pluta, M., Hamšíková, E. Longitudinal study of patients after surgical treatment for cervical lesion: detection of HPV DNA and prevalence of HPV – specific antibodies. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 2006, 25, p. 492-500 **(IF – 2.061)**

5. Rob, L., Charvát M., **Robová H.**, Pluta M., Strnad P., Hrehorčák M., Skapa P. Less radical fertility – sparing surgery than radical trachelectomy in early cervical cancer. Int. J. Gynecol. Cancer, 2007, 17, p. 304-310 **(IF – 1.427)**

6. Rob, L., Charvát, M., **Robová, H.**, Strnad, P., Pluta, M., Schlegerová, D. Identifikace sentinelových lymfatických uzlin u časných stadií cervikálních karcinomů. Čes. Gynekol., 2004, 69, p. 273-277.

7. Rob, L., Charvát, M., **Robová, H**. Strnad, P., Pluta, M., Schlegerová, D. Fertilitu zachovávající operace u časného stadia karcinomu děložního hrdla dnes a zítra. Čes. Gynek. 2006, 71, p. 303-307

8. Rob, L., Svoboda, B., **Robová, H.**, Stankušová, H., Cwiertka, K., Neumannová, R., Petera, J., Koliba, P., Kudela, M. Guideline gynekologických zhoubných nádorů – standard – Primární komplexní léčba operabilních stadií zhoubných nádorů děložního hrdla. Čes. Gynek. 2004, 69, p. 376-383

Abstrakta – zahraniční/přednášky v tématu disertace

Robová, H., Rob, L.,Charvát, M., Pluta M., Strnad, P., Škapa P. Neoadjuvant chemotherapy in early stage cervical cancer before fertility sparing surgery. Int. J. Gynecol. Cancer, 2006, 16 (Suppl.3), p. 710-711 **(IF – 1.417)**

Robová, H., Rob, L., M., Pluta M., Strnad, P., Kačírek, J., .Škapa P. Fertility – sparing surgery in early cervical cancer. Abstract book, ESGO meeting, Tbilisi, 2006, p. 12-16

Robova, H., Rob, L., Skapa, P., Strnad, P., Pluta, M., Hrehorcak, M., Taborska, K.Sentinel lymph node status and parametrial involvement in early cervical cancer. Abstract book, ESGO meeting, Tbilisi, 2006, p. 9-11

Squamous intraepithelial lesion – microinvasive carcinoma of the cervix during pregnancy

H. Robova[1], *M.D.*; L. Rob[1], *M.D., Ph.D.*; M. Pluta[1], *M.D.*; J. Kacirek[1], *M.D.*; M. Halaska jr.[1], *M.D.*; P. Strnad[1], *M.D., Ph.D.*; D. Schlegerova[2], *M.D.*

[1]Division of Gynecologic Oncology, Department of Obstetrics and Gynecology,
[2]Department of Pathological Anatomy, The Charles University Prague, 2nd Medical Faculty, Prague (Czech Republic)

Summary

Objective: The objective of this work was to assess proper management of squamous intraepithelial lesion (SIL) and microinvasive carcinoma during and after pregnancy, to assess risks of punch biopsy and conization in pregnancy and to assess regression, persistence and risk of progression with low-grade (L) and high-grade (H) SIL.

Methods: We carried out a prospective study of 167 pregnant women from our colposcopic unit who were referred to us for abnormal cytological findings between 1997 and 2002. The diagnosis of precancerosis was verified in all of the women by punch biopsy, suspect microinvasive carcinoma needle or LETZ conization up to the 20th week of pregnancy. All women were followed-up during the pregnancy and 24 months after their deliveries.

Results: In 23 women with suspect early invasion we performed conization during the pregnancy (weeks 13-23). There were six cases (26.1%) of microinvasive carcinoma and 17 cases (73.9%) of HSIL. One pregnancy aborted two days after the conization. No other obstetrical complications were recorded and there were no premature deliveries.

Sixty-two women with HSIL were only followed-up during their pregnancy. We observed complete regression of HSIL during the study in 14 patients (22.6%), regression to LSIL in 17 patients (27.4%), persistence in 25 patients (40.3%) and progression to microcarcinoma in six cases (9.7%).

Eighty-two patients were followed up for LSIL. Complete regression of LSIL was observed during the study in 40 cases (48.8%), persistence in 24 cases (29.2%) and progression to HSIL in 18 cases (22.0%).

Conclusion: For LSIL and HSIL during pregnancy the above follow-up is a sufficient and safe protocol. Suspect microinvasive carcinoma should be treated by conization, which is a safe procedure until the 24th week of pregnancy.

Key words: Squamous intraepithelial lesion; Microcarcinoma; Pregnancy; Conization; Punch biopsy.

Introduction

Abnormal cytological findings can be obtained in 5% of pregnancies, which corresponds with the incidence in a normal population. In the Czech Republic, cytology is routinely performed in the first trimester of pregnancy. Abnormal cytological findings indicate that a colposcopy should be performed. The technique of a colposcopic examination during the first trimester is the same as in non-pregnant women, but due to pregnancy changes of the cervix, it becomes more difficult after the first trimester, and is especially difficult during the third trimester. Colposcopy during pregnancy affords the advantage of eliminating an unsatisfactory colposcopy examination because of the eversion of the transformation zone of the cervix. Punch biopsy can be used to enhance the precision of the diagnostics in case of a precancerous lesion. If one of the prebioptic methods indicate suspect microinvasion, it is desirable to perform an expert colposcopy. And in case of persisting suspect microinvasive carcinoma, it is desirable to perform conization up to the 24th week of pregnancy. Our study focused on histologically verified low-grade and high-grade squamous intraepithelial lesions and microinvasive carcinoma of the cervix during pregnancy and the management of these lesions during pregnancy and after the delivery. Our objective was to assess the risks of the follow-up protocol, to assess the occurrence (in %) of regression and progression of a low-grade lesion (LGL) and high grade lesion (HGL) after the delivery and to assess the degree of safety of the punch biopsy and conization techniques we employ in pregnant patients.

This work was supported by grant IGA M2CR NR8464-3.

Revised manuscript accepted for publication June 10, 2005

Materials and Methods

The prospective study we performed between 1997 and 2002 included 185 pregnant women with abnormal cytological and/or colposcopic findings who were referred to our colposcopic unit. In this group of women with abnormal findings of suspect cervical lesion we diagnosed 18 normal findings in which the precancerous lesions were not confirmed, and two invasive carcinoma findings. These women were subsequently excluded from our study which then finally covered 167 women. We have histologically confirmed LSIL (CIN I) in 82 women and HSIL (CIN II, CIN III) or microinvasive carcinoma (Stage IA1) in 85 women. In our study we included only patients up to the 20th week of pregnancy who signed an informed consent including their participation for a three-year follow-up study and biopsy. All patients underwent an expert colposcopy with the use of 3% acetic acid. Colposcopic findings were placed in one of the following categories: normal findings, low-grade lesion (LGL), high-grade lesion (HGL), suspect microinvasive carcinoma and suspect invasive carcinoma. Controled cytological examinations

in our colposcopy unit were also performed in all patients, and the evaluations were done by the Bethesda nomenclature. Punch biopsy under colposcopy (one to three) was performed in all cases in which we expected LGL or HGL. Punch biopsy was performed without the application of local anesthesia, vasoconstrictive substance or coagulation and the patients were not hospitalized. Following the biopsy, a small vaginal packing was inserted which would be removed by the women four to six hours later. In case of suspect microinvasive carcinoma (from one of the diagnostic methods), conization was performed. The cone biopsies were performed under general anesthesia between the 13th and 23rd week of pregnancy. After disinfection and fixation of the cervix, a vicryl ligature was placed on the descendent branch of the uterine artery. An injection of 4 ml of terlipressine solution followed intracervically (localization clockwise in the numbers 3, 6, 9, 12). Three minutes later, a Lugol solution was applied to visualize the lesion, followed with laser (CO_2 laser -50W), needle conization or LETZ. The base of the cone was coagulated after the extirpation. Vaginal packing was then applied for 12 hours. An infusion consisting of 2g of $MgSO_4$ was applied intravenously during the procedure, and Mg lacticum was given for the remaining period of the hospitalization, which was on average of 5.1 days (4-7 days).

The follow-up protocol was the same for all women included in the study. This included colposcopic and cytological check-ups between the 22nd to 25th week of pregnancy (with women after conization, the first check-up consisted of only colposcopy without cytology), between the 32nd to 35th week of pregnancy, six weeks after their delivery and then every four months for a period of two years.

Results

High-grade SIL and microinvasive carcinoma: 85 patients with a median age of 28.2 (range between 20-37 years) having either HSIL or microinvasive carcinoma were diagnosed. Twenty-three patients underwent conization because of suspect microinvasive carcinoma. Sixty-two patients with HSIL were only followed-up after punch biopsy.

Twenty-three patients (27.1%) underwent conization between their 13th and 23rd week of pregnancy. Histopathological examination found six cases (26.1%) of microinvasive carcinoma and 17 cases (72.9%) of HSIL. Twelve cone biopsies (52.1%) had tumor-free margins (10 HSIL and 2 Stage IA1). No recurrence or persistence of precancerous lesions was detected two years after the delivery in these patients. Eleven biopsies (47.9%) (7 HSIL and 4 Stage IA1) had lesion involving the margins of the cone. Women with positive margins of the cone were followed-up during their pregnancy and four of them had normal colposcopy and cytology diagnosed six weeks after their deliveries and for the following two years. Six women were treated with repeated conization after the delivery (eight weeks to eight months). Histopathological findings in this group revealed one case of microinvasive carcinoma, four cases of HSIL and one case of LSIL. One woman with microinvasive carcinoma and CIS in the proximal margin disappeared from the follow-up and returned eight months after the delivery with cervical carcinoma Stage IB1 and concurrent breast cancer Stage III. In the final histology of the Wertheim operation, no positive lymphatic nodes (IB1, N0, M0) were detected in the carcinoma with invasion of 8 mm and 15 mm in the biggest diameter.

Only one pregnancy complication was observed after conization. A patient who had been hospitalized before for six weeks for retroplacentar hematoma had a spontaneous abortion two days after a LETZ biopsy in the 17th week of pregnancy. The histopathological finding was microinvasive carcinoma Stage IA1. All 22 women after conization delivered at term (37th to 41st week of pregnancy), two women (9.1%) delivered by caesarean section due to obstetrical indications, and the remaining 20 women (90.9%) delivered spontaneously without complications.

Sixty-two patients (72.9%) with HSIL confirmed by punch biopsy were followed-up during pregnancy. Fourteen patients' (22.6%) lesions regressed, eight patients (12.9%) had normal cytological and colposcopic findings up to one year after their delivery and then for another following year. Six patients' (9.7%) lesions regressed to LSIL and in the second year regressed to a normal finding. Nine patients' (14.5%) lesions regressed to LSIL and in the second year five were treated by conization (four cases with histology – CIN I, and one condymomatous lesion), four patients with LSIL did not wish to be further treated or continue with the follow-up after the period of the study. Thirty-nine patients (62.9%) were treated by conization after the delivery because of persisting HGL or progression of the lesion. The conizations were performed two weeks to 14 months after delivery depending on the findings and wishes of the patient. We indicated conization in six cases of suspect microinvasive carcinoma two to ten weeks after delivery. The histopathological findings consisted of five microinvasive carcinomas (Stage IA1) and one HSIL. In the remaining 33 cases, the decision was taken with regard to the patients' wishes (usually after the termination of breast feeding – 4 to 14 months after delivery). Histopathological examinations revealed eight cases of LSIL, 24 cases of HSIL (one patient had HSIL and adenocarcinoma in situ – AIS) and one case of microinvasive cancer Stage IA1. The summary results for the 62 women followed-up for HGL are shown in Table 1. In the course of the study, 14 women (22.6%) regressed to a normal finding and 17 women (27.4%) regressed to LSIL. In 25 women (40.3%) the findings remained unchanged. In the cases of six women, early invasive carcinoma (Stage IA1) was detected during conization (Table 1).

Table 1. — *HSIL - 62 cases followed during pregnancy, outcome after delivery and 24-month follow-up.*

Regression of the finding		
Normal finding	14 (22.6%)	
LSIL – follow-up	4 (6.4%)	31 (50%)
LSIL – conization	13 (21.0%)	
No regression of the finding		
HSIL + 1xAIS – conization	25 (40.3%)	31 (50%)
Mica - IA1 – conization	6 (9.7%)	

Microcarcinoma

In the group of women with follow-up, all deliveries took place at term: four delivered (6.5%) by cesarean section due to obstetrical reasons, one delivered (1.6%) by cesarean section due to Stage IA1 carcinoma, and 57 women (91.9%) delivered spontaneously.

Low-grade SIL: Eighty-two women with a histopathological diagnosis of LSIL with an average age of 26.4 years (range between 19-36 years) were followed-up during pregnancy. The patients were referred to us, on average, in the 15th week (range between the 9th - 20th week) of pregnancy. Regression in the first year after delivery was observed in 36 cases (43.9%). Thirty-six conizations (43.9%) were performed because of persistency or progression of the finding more than one year after delivery. Histopathological findings revealed LSIL in 19 cases, HSIL in 17 cases. In ten cases (12.2%) with persistent LGL, we respected the patients' wishes not to be treated by conization and to continue with the follow-up. In this group, three women got pregnant in the second year, two cases of LSIL regressed and the colposcopic and cytological findings were normal after the delivery, and in one case we performed conization after the delivery following an HSIL finding. In the cases of five women, the LGL finding persisted even after two years of follow-up. With two women, the LSIL finding regressed in the second year of the follow-up and the colposcopic and cytological findings were normal. The final results for 82 women followed-up for LGL in the course of the study are shown in Table 2. Forty women (48.8%) regressed to normal findings in the course of the study. The LGL finding persisted in the cases of 24 women (29.3%) and with 18 women (22%) the findings progressed to lesions HSIL. None of the women were diagnosed during the study for early invasison (Table 2).

Table 2. — *LSIL - 82 cases, outcome after delivery and 24-month follow-up.*

Group	Number of cases	%
Spontaneous regression - normal findings	40	(48.8%)
LSIL - persistent	24	(29.2%)
HSIL - progression	18	(22%)

Discussion

The follow-up of HSIL during pregnancy is a safe procedure in cases where colposcopy is performed by an expert colposcopist with a quality cytological background. We check patients every ten weeks - usually between the 12th and 14th, 22nd and 24th, and 32nd and 34th weeks of pregnancy. We have not found, in concordance with the available literature, any major complications after punch biopsies [1, 2]. The combination of expert colposcopy and cytology can be sufficient for the diagnosis of HGL, if both methods concur with each other. We reserve punch biopsy for cases of discord between colposcopy and cytology. The literature describes spontaneous regression of HSIL after delivery in 25%-33% of cases. In our study, 14 patients (22.6%) experienced complete regression, and in 17 patients, (27.4%) lesions regressed to LSIL up to two years after delivery. Other authors conclude that there is no difference in the regression rate of HSIL after spontaneous delivery or cesarean section [4, 5]. Because of the small number of cesarean sections in our group, it was highly difficult to obtain such data from our patients. In the group of 62 women with HG lesions that we followed-up on, only six patients (9.7%) progressed during their pregnancy and the post-delivery period, and during the subsequent conizations, we detected microinvasive carcinoma Stage IA1. Up to now, unfortunately, it has been impossible to predict which lesions would regress and which would persist or progress. Possibly immuno-histochemical or genetic parameters would help us in our predictions. According to current knowledge, regression or persistence/progression is due to the immune status and smoking preferences of women.

The most important topic of the management of suspect HG lesions in pregnancy is the recognition of microinvasion or invasion in lesions. Cytological and colposcopic diagnostics of microinvasion during pregnancy are very difficult, as our group also confirmed 23 conizations suspect for microinvasion of Stage IA while the histopathological examination confirmed the diagnosis in only six women (26.1%). Since colposcopy is difficult during pregnancy, an examination by two expert colposcopists is considered very important before conization is indicated. In order to properly estimate early invasion, it is necessary to remove the whole suspect lesion by conization rather than by punch biopsy, which is not considered satisfactory [3, 6]. Conization during pregnancy is more of a diagnostic than therapeutic procedure because we do not perform conization to the same extent as in non-pregnant patients. In pregnancy we always want to remove the most colposcopically suspected lesion. In our experience the least serious changes have been on the periphery of large lesions and we have usually detected a lower degree of precancerous lesions in the margins of conization. The literature reports residual SIL in 43-53% of cases [7-9]. In our cohort of 23 conizations during pregnancy 11 women (47.9%) had precancerous lesions reaching the margins of conization and residual findings were found after the deliveries of six women (26.1%). One woman (4.3%) failed to appear for the check-up after conization. Her findings progressed and 14 months after the conization she presented with invasive carcinoma Stage IB1 and breast carcinoma Stage III. In the cases of 12 women after conization with unaffected margins and four women whose precancerous lesion penetrated the border of the smear, we performed conization for therapeutic reasons and further follow-up did not confirm a precancerous lesion. The literature reports 5-15% blood loss following conization and a 25% chance of spontaneous abortion [7, 9, 10]. We did not observe any great blood loss after conization which would have required treatment. The only spontaneous abortion occurred in the case of the high-risk pregnancy. We assume that our method and technique described above is safe

between the 13th and 24th weeks. We recorded no increases in the rate of premature deliveries or cesarean sections. No premature delivery occurred in the group of patients after conization during pregnancy or in the follow-up group. This seemed to correspond with increasing the care for our patients. All our patients with HSIL were followed-up at the risk pregnancy clinic more often than normal women and we treated all vaginal infections in a timely fashion. In our study we had only one adenocarcinoma in situ with exocervical HSIL. Pre-adenocarcinoma in pregnancy is a very rare diagnosis.

Low-grade intraepithelial cervical lesions are the most common abnormal findings of the cervix. The combination of cytology and colposcopy is safe and sufficient for the follow-up. Progression of the lesion to invasive carcinoma is very unlikely during pregnancy. Progression takes many years; the literature describes only a 1% chance of progression during pregnancy [11]. Regression of LSIL is usually seen in more than 50% of women. We recorded regression in 48.8%. We found conservative management sufficient and we recommend at least two years of follow-up after delivery.

References

[1] Economos K., Perez Veridiano N., Delke I., Collado M.L., Tancer M.L.: "Abnormal cervical cytology in pregnancy: a 17-years experience". *Obstet. Gynecol.*, 1993, *81*, 915.
[2] Kohan S., Beckman E.M., Bigelow B., Klein S.A., Douglas G.W.: "The role of colposcopy in the management of cervical intraepithelial neoplasia during pregnancy and postpartum". *J. Reprod. Med.*, 1980, *25*, 279.
[3] Malone J.M., Sokol R.J., Ager J.W.: "Pregnancy, human papillomavirus and cervical intraepithelial neoplasia". *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, 1988, *9*, 120.
[4] Yost N.P., Santoso J.T., McIntire D.D., Iliya F.A.: "Postpartum regression rates of antepartum cervical intraepithelial neoplasia II and III lesions". *Obstet. Gynecol.*, 1999, *93*, 359.
[5] Coppola A., Sorosky J., Casper R., Anderson B., Buller R.E.: "The clinical course of cervical carcinoma in situ diagnosed during pregnancy". *Gynecol. Oncol.*, 1997, *67*, 162.
[6] Benedet J.L., Selke P.A., Nickerson K.G.: "Colposcopic evaluation of Papanicolaou smears in pregnancy". *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1987, *157*, 932.
[7] Hannigan E.V., Whitehouse H.H., Atkinson W.D., Becker S.N.: "Cone biopsy during pregnancy". *Obstet. Gynecol.*, 1982, *60*, 450.
[8] Hacker N.F., Berek J.S., Lagasse L.D., Charles E.H., Savage E.W., Moore J.G.: "Carcinoma of the cervix associated with pregnancy". *Obstet. Gynecol.*, 1982, *59*, 735.
[9] Robinson W.R., Webb S., Tirpack J., Degefu S., O'Quinn A.G.: "Management of cervical intraepithelial neoplasia during pregnancy with LOOP excision". *Gynecol. Oncol.*, 1997, *64*, 153.
[10] Averette H.E., Nasser N., Yankow S.L., Little W.A.: "Cervical conization in pregnancy". *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1970, *106*, 543.
[11] Jain A.G., Higgins R.V., Boyle M.J.: "Management of low grade squamous intraepithelial lesions during pregnancy". *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1997, *177*, 298.

Address reprint requests to:
H. ROBOVA, M.D.
Dept. of Obstetrics and Gynecology
2nd Medical Faculty
Charles University
Vuvalu 84
15000 Prague (Czech Republic)

The Annual Meeting on Women's Cancer

March 4-8, 2006 at the new orleans marriott
Society of Gynecologic Oncologists

Educational Session Topics

The broad educational program designed by the SGO Program Committee appeals to all individuals involved in the treatment of women with gynecologic cancer. Following are the 11 abstract categories for the 2006 Annual Meeting on Women's Cancer:
Breast, Cervix, Clinical Practice Issues, Endome-trium/Uterus, Fallopian Tube, Gestational Trophoblastic Disease, Ovary, Quality of Life, Techniques, Vagina, Vulva.

Technical Assistance

For technical assistance with online submissions, contact SGO via e-mail or phone. Contact information is provided below:
E-mail: sgo@dbpub.com; Phone: 800/375-2586 (United States) or 617/621-1398 (International).

Questions?

If you have any questions regarding these procedures, contact
SGO HEADQUARTERS at 312/321-4099 or via e-mail at sgo@sgo.org.

Free of charge

Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE DIRECT®

Gynecologic Oncology 99 (2005) S147–S148

Gynecologic Oncology

www.elsevier.com/locate/ygyno

Conference Report

Sentinel lymph node identification (SLNI) in the management of conservative surgery in early cervical cancer: Is it acceptable?☆

Objective

The aim of this study is to determine the feasibility and usefulness of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymph node identification in the management of early stage IA2 and small IB1 uterine cervical cancer. A second aim was to determine whether less excessive parametrial tissue removal in sentinel node negative patients is acceptable.

To do this, we endeavored to study the detection of sentinel lymph nodes with a combination of blue dye alone and blue dye with Technectium. Sentinel lymph node identification currently allows for more precise examination of the most critical nodes through serial section and immunohistochemical staining [1–7]. The absence of involvement of the sentinel nodes is likely to be predictive of: 1) the absence of involvement in the regional nodes and 2) involvement of the medial part of the lateral parametrium. For sentinel node negative patients in early stage IA2 and small IB1 uterine cervical cancer, less excessive parametrial tissue removal is acceptable (large cone, simple trachelectomy or simple hysterectomy).

Patients and methods

The study consisted of two groups. The first included twenty-four patients (mean 28.1 years old) undergoing laparoscopic sentinel lymph node identification (blue dye or blue dye + Technetium) as a first step of conservative uterus sparing surgery. This first group was the large cone or simple trachelectomy group. The second group was thirty patients (mean 41.6 years old) undergoing conservative parametrial reduced surgery and was called the simple vaginal hysterectomy group. Selection criteria included a tumor less than 20 mm in the largest diameter and representing less than half of the surgical stroma in MRI and ultrasound volumometry, serum squamous cell antigen levels within normal range, and informed consent. After sentinel lymph node identification, we performed a peri-operative frozen section of sentinel lymph nodes. Then, a complete pelvic laparoscopic lymphatic node dissection was performed as the first step of our management. Positive findings in the frozen section were an indication for laparotomic radical hysterectomy type III. All the nodes were submitted for microscopic assessment: sentinel nodes for serial section and immunohistochemical staging, other nodes for standard assessment. In patients with negative nodes, the second step (large cone or simple trachelectomy or simple vaginal hysterectomy) was performed after 7 days.

Results

The specific site detection rate of sentinel lymph nodes in patients undergoing the laparoscopic procedure was 83.3% (blue dye) and 93.8% (blue dye + Technectium). The average sentinel nodes detected per side was 1.56, with the average of all nodes visualized being 28. Four frozen sections were positive in the trachelectomy group. These cases were advanced to type III Wertheim radical hysterectomy. In the simple hysterectomy group, there were three sentinel node positive patients (10%). In one patient in whom the frozen section was positive and in two in whom the frozen section was negative, we found two micrometastases and isolated tumor cells. There were no false negative sentinel lymph node results. The median follow up was 45 (range 12–74) months in the trachelectomy group and 28 (range 12–53) months in the hysterectomy group. One patient in the trachelectomy group experienced a central recurrence 14 months after surgery. This patient was treated by chemoradiation and has been without evidence of disease for 26 months.

Conclusion

Sentinel lymph node identification is a new strategy for the examination of nodal status. The absence of involvement of the sentinel nodes is likely to be predictive of the absence of involvement to the regional nodes. The absence of involvement of the sentinel nodes is also predictive of the absence of involvement of the medial part of lateral parametria in the patients with early cervical cancer. Lymphatic mapping and sentinel lymph node identification

☆ This report is based on a presentation given at the 4th International Conference on Cervical Cancer and was prepared in part by Michele Follen.

doi:10.1016/j.ygyno.2005.07.068

with frozen section improved the safety in conservative surgery group. We advocate a two-step management approach; this approach allows more precise histopathologic evaluation of high risk nodes. Using serial sectioning and immunohistochemical staining of the sentinel node, we have improved the safety of less radical surgery for early cervical cancers such as stages IA2 and IB1, with less than half stromal invasion.

References

[1] Chmel R, Novackova M, Pastor Z, Vlk R, Horcicka L, Pluta M. Abdominal hysterectomy—Risk factor in development of urinary incontinence? Results of a questionnaire study. Ces Gynekol 2005;70(1):53–6 [Czech].

[2] Robova H, Rob L, Svoboda B, Stankusova H, Cwiertka K, Neumannova R, et al. Guideline for gynecological malignant tumors 2004—Primary complex therapy in operable stages of malignant tumors of vulva. Ces Gynekol 2004;69(9):477–83 [Review. Chech].

[3] Rob L, Svoboda B, Robova H, Stankusova H, Cwiertka K, Neumannova R, et al. Guideline for gynecological malignant tumors—Primary complex therapy in operable stages of malignant tumors of the uteran cervix. Ces Gynekol 2004;69(5):376–83 [Review. Chech].

[4] Rob L, Charvat M, Robova H, Strnad P, Pluta M, Schlegerova D. Sentinel lymph node mapping in early-stage cervical cancer. Ces Gynekol 2004;69(4):273–7 [Chech].

[5] Rob L, Svoboda B, Finek J, Stankusova H. Guidelines for malignant tumors: I. Standard-primary comprehensive treatment of malignant epithelial tumors. Oncologic Gynecology section of the Czech Gynecological and Obstetric Society. Ces Gynekol 1999;64(5):331–7 [Chech].

[6] Rob L, Citterbart K, Svoboda B, Stankusova H, Finek J. Guidelines for malignant tumors: II. Standard-primary comprehensive treatment in operable stages of malignant tumors of the uteran cervix. Oncologic Gynecology section of the Czech Gynecological and Obstetric Society. Ces Gynekol 1999;64(6):376–82 [Chech].

[7] Rob L, Strnad 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: 281–8.

Lukas Rob*
Martin Charvat
Helena Robova
Pavel Strnad
Marek Pluta
Michal Halaska
Martin Hrehorcak
Department of Gynecology and Obstet., Division of Oncogynecology, Charles University Prague, 2nd Medical Faculty, V Úvalu 84, Prague 5, 15000, Czech Republic
E-mail address: lukas.rob@lfmotol.cuni.cz.
*Corresponding author.

Dana Schlegerova
Department of Pathology and Molecular Medicine, Charles University Prague, 2nd Medical Faculty, V Úvalu 84, Prague 5, 15000, Czech Republic

Katerina Taborska
Department of Nuclear Medicine, Charles University Prague, 2nd Medical Faculty, V Úvalu 84, Prague 5, 15000, Czech Republic

Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE DIRECT

Gynecologic Oncology 98 (2005) 281 – 288

Gynecologic Oncology

www.elsevier.com/locate/ygyno

Study of lymphatic mapping and sentinel node identification in early stage cervical cancer

Lukas Rob[a,*], Pavel Strnad[a], Helena Robova[a], Martin Charvat[a], Marek Pluta[a], Dana Schlegerova[b], Martin Hrehorcak[c]

[a]Division of Gynecologic Oncology, Department of Obstetrics and Gynaecology, Charles University Prague, 2nd Medical Faculty, V uvalu 84, 150 00 Prague 5, Czech Republic

[b]Department of Pathological Anatomy, Charles University Prague, 2nd Medical Faculty, Prague, Czech Republic

[c]Nuclear Medicine Department, Charles University Prague, 2nd Medical Faculty, Prague, Czech Republic

Received 22 January 2005
Available online 15 June 2005

Abstract

Objective. The aim of our study was to compare the identification of sentinel lymph nodes (SLN) by blue dye and ^{99m} Tc; to evaluate detection rate per patient and specific side detection rate (SSDR) of SLN, distribution of SLN and distribution of positive SLN and false negative rate of the methods.

Patients and methods. From February 2000 until September 2004, we included 183 women with early stage cervical carcinoma. We evaluated two methods of detection of SLN (100 cases by Patent blue, 83 cases by Patent blue with ^{99m}Tc). We stratified the group upon the size of the tumor and upon the type of surgical method (laparoscopy, laparotomy).

Results. SLN identification increased in cases when we used combination of both methods (Tc + blue dye) SSDR = 93% versus the use of blue dye only SSDR = 71% (OR:5,76, CI 95% −2.9 −11.4, <0.0001). Distribution of 462 SLN—45.0% external iliac artery and vein, 42.6% supraobturator, 4.8 bifurcation and common illiac artery and vein, 4.6% praesacral, 3% medial part of lateral parametrium. Distribution of 44 positive SLN—approximately 38.6% external illiac artery and vein, 45.5% supraobturator, 6.8% bifurcation and common illiac artery and vein, 4.5% praesacral, 4.5% medial part of lateral parametrium. One false negative SN was in presacral area.

Conclusion. Detection of SLN by combination of ^{99m}Tc and blue dye was statistically significantly better than blue dye alone. Our study documents high sensitivity, specificity and low false negativity of the method.
© 2005 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: Lymphatic mapping; Sentinel node identification; Cervical carcinoma

Introduction

The gynecological oncology aims at the highest survival rate with the lowest morbidity. In early stages of cervical carcinoma, morbidity can be reduced by less radical surgical treatment or in case of lymph node metastasis by primary chemoradiotherapy without radical surgery. Lymph node metastasis is one of the most important prognostic factors in patients with early stage cervical carcinoma. Preoperative detection of sentinel nodes is one of the prospective methods that can reliably verify the status of regional lymph nodes. The detection of sentinel nodes is currently a standard component of the surgical treatment of malignant melanoma [1,2]. A number of gynecological oncology or surgery departments use detection of sentinel nodes in breast carcinoma [3,4] as a standard procedure. In case of vulvar carcinoma, a number of papers have been published confirming that SLN mapping technique is feasible and highly accurate in predicting the status of regional lymph nodes [5–8]. Sentinel nodes are currently detected by the application of two techniques: blue dye and radioactive tracer ^{99m}Tc. The combination of the two techniques

* Corresponding author. Fax: +42 224 434 218.
E-mail address: lukas.rob@lfmotol.cuni.cz (L. Rob).

0090-8258/$ - see front matter © 2005 Elsevier Inc. All rights reserved.
doi:10.1016/j.ygyno.2005.04.016

increases their sensitivity in case of the melanoma and breast and vulvar cancer [2,4,6,8]. In the past 5 years, a number of papers have been published on SLN mapping in cervical cancer [9–17]. These studies used different patient selection criteria, different techniques, different particles of radiocolloid and different timings of the procedure. Despite those differences, the preliminary studies indicated that SLN mapping is a promising technique.

The aim of our study was to report our experience with sentinel node mapping in early stage cervical cancer, to compare identification of sentinel lymph nodes (SLN) by blue dye versus ^{99m}Tc, to evaluate detection rate (DR) per patient and specific side detection rate (SSDR) of sentinel nodes in different tumor volume, distribution of sentinel nodes and distribution of positive sentinel nodes and to evaluate false negative rate of sentinel node identification.

Patients and methods

Patients

Between February 2000 and September 2004, 187 patients with early stage (IA2–IIA) carcinoma of the uterine cervix were enrolled in this study. All histological tumor types were allowed. Exclusion criteria included clinical evidence of advanced disease, parametrial involvement, extrauterine metastases or bulky nodes detected during the surgery. We excluded three patients: two with clinically clear signs of extrauterine dissemination (parametrial involvement and bulky pelvic node) and one with bulky, unresectable node packets. In case of these three women, the surgery was terminated, and they were referred to chemoradiotherapy. One woman developed a serious anaphylactic reaction 30 s following the application of Patent blue, and the radical surgery was postponed by 10 days without subsequent detection of sentinel nodes. Altogether, we evaluated 183 women who were subjected to systematic laparoscopic or laparotomic pelvic lymphadenectomy following the SLN identification. In women with identified positive nodes during operation, lymphadenectomy was extended to low paraaortic lymphadenectomy. In case of the first 100 women, Patent blue dye was applied for the detection only. In case of the following 83 women, we used a combination of Patent blue and technetium radiocolloid. An informed consent was signed by all patients. We performed preoperational tumor volumetry by transvaginal ultrasound in all 183 women exploiting 8 MHz transvaginal probe on Acuson Sequoia 512. Diameter measurements were performed in two planes: sagittal plane for longitudinal diameter and in perpendicular frontal plane for anteroposterior and transversal diameter. In 140 women, we performed magnetic resonance volumetry using Gyroscan ACS-15NT Power Track 1000, Phillips with magnetic field 1.5 T. T2-weighted images in spin echo mode (TSE) were used. Two planes were used similarly as in USG measurement.

Patients with a tumor measuring more than 40 mm in largest diameter were treated in consistence with department policy with a high dose density (10 day interval) neoadjuvant chemotherapy (cisplatin 75 mg/m^2 and ifosfamide 2 g/m^2) three courses prior to radical surgery.

Technique and timing of application

The most important aspect of SLN mapping are timing and technique of blue dye and isotope injection into the cervix. In the first 100 women, we used 4 ml Patent blue without dilution during operation only (PATENTBLAU V Byk Gueden, Germany or BLEU PATENTÉ V 2.5%-Guerbet, France). Immediately after visualization of the pelvis, the blue dye was instilled very slowly into the tumor bed and peritumorally into the four quadrants of the cervix. The blue dye should not be applied into the tumor. Retroperitoneal space was opened 3–7 min after the application of the blue dye. In the second part of our study (83 women), we used radiocolloid 20 MBq ^{99m}Tc-labeled Sentiscint colloidal albumin measuring 100–600 nm in diameter (MEDI-RADIOPHARMA LTD, Hungary) diluted in 2 ml of saline solution and Patent blue 2 ml diluted in 2 ml of saline solution. In the operating room, after the introduction to general anesthesia, ^{99m}Tc is injected into the cervix very slowly (5–8 s to each quadrant), into the tumor bed and peritumorally. The patient is disinfected, and subsequently toweling is applied. 10 to 15 min later, laparoscopic or laparotomic exploration of small pelvis is performed. As in the case of ^{99m}Tc, Patent blue is then applied using vaginal approach under direct visualization. Direct visualization of the pelvis allows the surgeon to observe the individual blue colored lymphatic channels. 5 min after the application of Patent blue and 15 to 20 min after the radioisotope application, retroperitoneum is opened. 20-gauge needle is used for the application.

Laparoscopic and laparotomic sentinel node identification

In the case of cervical carcinoma, we used a short protocol of ^{99m}Tc application and did not employ preoperative lymphoscintigraphy. Upon the identification of individual blue dyed lymphatic channels and blue colored nodes, we performed radioactivity detection with a laparoscopic gamma probe (Neoprobe, Johnson and Johnson, USA and C-Trak, USA) or in case of laparotomy with the handheld gamma probe on both sides. After the extirpation of a node, the radioactive intensity of the node outside the body was verified once more. Following the extirpation of "hot" and "blue" nodes, we checked on the activity in other regions (presacral, supraobturatory, infraobturatory, external iliac and common iliac zones) with a laparoscopic gamma probe.

All SLN were submitted for frozen section. In all patients, complete pelvic lymphadenectomy was performed, clearing the external iliac vessels, the supraobturatory fossa, infraobturatory fossa and the common iliac vessels up to the level of the aortic bifurcation and praesacral nodes. If SLN proved metastatic tumor cells, a low paraaortic lymphadenectomy was performed. When we proceeded laparoscopically and the frozen section was found positive, we continued laparotomically and performed a radical hysterectomy Wertheim type III with pelvic and lower paraaortic lymphadenectomy. The lymphatic drainage of the cervix is conducted bilaterally, and thus the detection rate per patient (DR) is less accurate than the specific side detection rate (SSDR).

Pathological evaluation

Sentinel nodes (blue and/or hot) were sent for frozen section. Nodes larger than 8 mm were divided into two halves, parallel to the long axis of the node. Both halves were frozen in one block. Nodes less than 8 mm were frozen in one piece. Nodes were cut at intervals 40 μm by 4 μm section cut and were stained with Harris hematoxylin. After the frozen section, the lymph node slices were fixed in a buffered 4% formaldehyde, pH 7.2. The tissue was embedded in a paraffin wax by standard serial sectioning techniques. Each level was stained for hematoxylin and eosin (HE). Every third slide was immunostained with an anti-cytokeratin antibody—large spectrum, cytokeratines mixture CK 5, 6, 8, 17, 19 (Immunotech, France). All other surgically removed lymph nodes were examined histopathologically using routine hematoxylin and eosin (HE) staining.

Statistical analysis

We applied the two-sided Fisher's Exact Test to compare the differences among individual groups. Odds ratio (OR) with a 95% confidence interval (CI), and P value was calculated on the basis of 2 × 2 contingency tables in GraphPadInStat (version 3.05—GraphPadSoftware, San Diego, California) program. A P value less than 5% was considered statistically significant. The Mantel–Haenszel chi-square for trend was used to evaluate the impact tumor size played role in SLN identification.

Results

Patient characteristics, detection rate

Between February 2000 and September 2002, 100 patients were recruited into the first part of our study (Patent blue). Between May 2002 and July 2004, 83 patients were recruited into the second part of our study (Patent blue + ^{99m}Tc). The median age of the patients was 45.6 (age range 25–71 years). 49 patients (26.8%) underwent a diagnostic cone biopsy. All 183 patients underwent a complete and bilateral node dissection. In 39 patients, detection of sentinel nodes was performed laparoscopically. In 144 patients, SLN detection was performed laparotomically. During the subsequent systematic pelvic lymphadenectomy, a median of 27.2 nodes were obtained (range 14–36 nodes) from laparoscopically treated patients and a median of 33.5 nodes (range, 14–73) from laparotomically treated patients (Table 1). The group was divided according to the volumetric results into a subgroup with the largest diameter less than 20 mm (stages IA2, IB1), 20 to 40 mm, and a subgroup of "bulky" tumors with the largest diameter over 40 mm in which we administered a high dose density neoadjuvant chemotherapy three courses prior to the radical surgery. SLN detection rate (detection of sentinel nodes per patient) in tumors up to 20 mm was high, over 90%. It was lower in tumors over 20 mm, and the lowest detection was recorded in women after neoadjuvant chemotherapy. In case of cervical carcinoma, detection per patient is not a suitable parameter for evaluation of the success of the method. Since the lymphatic drainage of the cervix is bilateral, application of the specific side detection rate seems to be more accurate. The SSDR was 83% in tumors of up to 20 mm both in the

Table 1
Characteristics of subjects Patent blue group

	No. patient	SLN detection per patient		SLN detection			SSDR[a]	SLN	SLN positivity % patient		False negativity
				Bilateral	Unilateral	Without					
1. IA2/IB1 <20 mm laparoscopy	21	19	90.48%	16	3	2	83.33%	53	3	14.29%	0
2. IB1 <20 mm laparotomy	24	22	91.67%	18	4	2	83.33%	65	4	16.67%	0
3. IB >20 mm	30	24	80.00%	18	6	6	70.00%	58	8	26.67%	1
4. IB2 NAC[b]	25	15	60.00%	10	5	10	50.00%	37	5	20.00%	0
Total	100	80	80.00%	62	18	20	71.00%	213	20	20.00%	1

[a] SSDR—specific side detection rate.
[b] NAC—Neoadjuvant chemotherapy.

laparoscopic as well as the laparotomic groups, 70% in tumors larger than 20 mm and it dropped to 50% in women who underwent neoadjuvant chemotherapy. The larger the tumor volume, the lower the detection capacity. This is primarily the result of declining success using the blue dye-only methodology. The trend analysis illustrates this effect being significant for blue dye (X trend = 17.4, $P < 0.0001$) but not so for combined method (X trend = 1.49, $P = 0.22$). The difference between the group of patients who underwent primary operation and those after neoadjuvant chemotherapy was the only statistically significant finding ($P < 0.0001$). The total number of sentinel nodes was 213, on average 1.5 sentinel node per a detected side. Positive nodes were detected in 20% of women. Only one false negative node was detected in the presacral region when the nodes in the supraobturator region were determined as negative. In a group of women by whom the sentinel nodes were not detected, one positive node was found in one patient.

Characteristic of the second "^{99m}Tc + Patent blue" group (Table 2): the group was identically divided according to the volumetric results—the group with the largest diameter of up to 20 mm was further subdivided into a laparoscopic and laparotomic group. SLN detection rate (detection of sentinel nodes per patient) was 100% in tumors of up to 20 mm, 92% in tumors of over 20 mm and in cases after NAC. Specific side detection rate using the combination of ^{99m}Tc and Patent blue in tumors of up to 20 mm in the laparoscopic group was 94%, in the laparotomic group 96%. In the group "^{99m}Tc + Patent blue", there is no statistically significant difference among patients of different tumor sizes. The total number of sentinel nodes was 249, 1.6 sentinel nodes per one detected side on average. Concurrent Tc-active and blue SLN was found in 207 nodes (83%), Tc-active only in 24 nodes (9.6%) and blue SLN without Tc activity in 18 nodes (7.2%). In this group of 83 women, positive nodes were detected in 15 patients (18.1%). No false negative nodes were detected. In the group of women with no detected sentinel nodes, no positive nodes were found.

Table 3 compares SSDR in groups with "Patent blue detection only versus radioisotope + Patent blue". In all subgroups, detection was higher when the combination of radioisotope + Patent blue was applied. The only not statistical significant differences were found in the group with tumors of up to 20 mm where detection was performed by laparoscopy. In all other groups, the difference in detection was statistically significant in favor of the combination of both methods.

Sites and distribution of sentinel lymph nodes

A total of 462 lymph nodes were detected as sentinel nodes. All SLN were pelvic nodes. Distribution of sentinel nodes can be seen in Fig. 1: 45% of sentinel nodes were localized in the external iliac artery and vein region (208 nodes), 42.6% in the supraobturator region (197 nodes), 4.8% in the common iliac region (22 nodes), 4.6% in the presacral region (21 nodes), and 3% in the parametrial region—in the medial part of lateral parametrium (14 nodes). Paraaortic sentinel lymph nodes were not detected in any patients.

Sites and distribution of positive sentinel nodes

A total of 44 sentinel lymph nodes (35 patients) were positive. All positive SLN were pelvic nodes. Distribution of positive sentinel nodes can be seen in Fig. 2: 38.6% of the positive sentinel nodes were localized in external iliac artery and vein region (17 nodes), 45.5% in the supraobturator region (20 nodes), 6.8% in the common iliac region (3 nodes), 4.5% in the presacral region (2 nodes), 4.5% in the parametrial–medial part of lateral parametrium (2 nodes). Both patients with positive parametrial nodes had positive obturator or external iliac sentinel nodes. Positive paraaortic sentinel nodes were not detected in any patients, and two patients with positive pelvic sentinel nodes were positive in the low paraaortic region. We had one false negative sentinel node in the presacral region.

Table 2
Characteristics of subjects ^{99m}Tc + Patent blue group

	No. patient	SLN detection per patient		SLN detection			SSDR[a]	SLN	SLN positivity % patient		False negativity
				Bilateral	Unilateral	Without					
1. IA2/IB1 <20 mm laparoscopy	18	18	100.00%	16	2	0	94.44%	53	2	11.11%	0
2. IB1 <20 mm laparotomy	27	27	100.00%	25	2	0	96.30%	81	2	7.41%	0
3. IB >20 mm	12	11	91.67%	11	0	1	91.67%	38	2	16.67%	0
4. IB2 NAC[b]	26	24	92.31%	23	1	2	90.38%	77	9	34.62%	0
Total	83	80	96.39%	75	5	3	93.37%	249	15	18.07%	0

[a] SSDR—specific side detection rate.
[b] NAC—neoadjuvant chemotherapy.

Table 3
Comparison SSDR between Patent blue and ^{99m}Tc + Patent blue groups

	SSDR[a] Patent blue			SSDR[a] Tc + Patent blue			OR	CI 95%	*P* value
	No. of detection	No. of overall sides		No. of detection	No. of overall sides				
1. IA2/IB1 <20 mm laparoscopy	35	42	83.33%	34	36	94.44%	3.40	0.66–17.50	0.167
2. IB1 <20 mm laparotomy	40	48	83.33%	52	54	96.30%	5.20	1.05–25.90	0.043
3. IB >20 mm	42	60	70.00%	22	24	91.67%	4.71	1.00–22.20	0.047
Total (1 + 2 + 3)	117	150	78.00%	108	114	96.43%	5.08	2.05–12.6	<0.0001
4. IB2 NAC[b]	25	50	50.00%	47	52	90.38%	9.40	3.20–27.60	<0.0001
Total (1 + 2 + 3 + 4)	142	200	71.00%	155	166	93.37%	5.76	2.90–11.40	<0.0001

[a] SSDR—specific side detection rate.
[b] NAC—Neoadjuvant chemotherapy.

This patient (No. 92 patient of our study) had a negative SLN in the supraobturator region on the left and the right side.

Discussion

Several groups recently published their experience with the detection of sentinel nodes in early stages of cervical carcinoma. The comparison of individual studies published and of our experience clearly indicates that the technique and timing of application is very important for high detection rate particularly in the case of blue dye but also in the case of radiocolloid ^{99m}Tc [9,10,12,14,15].

Application technique

The exact information obtained by ultrasound or MRI volumetry indicating the extent of infiltration of the cervical stroma enables us to apply the lymphotropic substance to the "tumor bed", that means to the border dividing the tumor from the healthy stroma. The application of the lymphotropic substance into the tumor

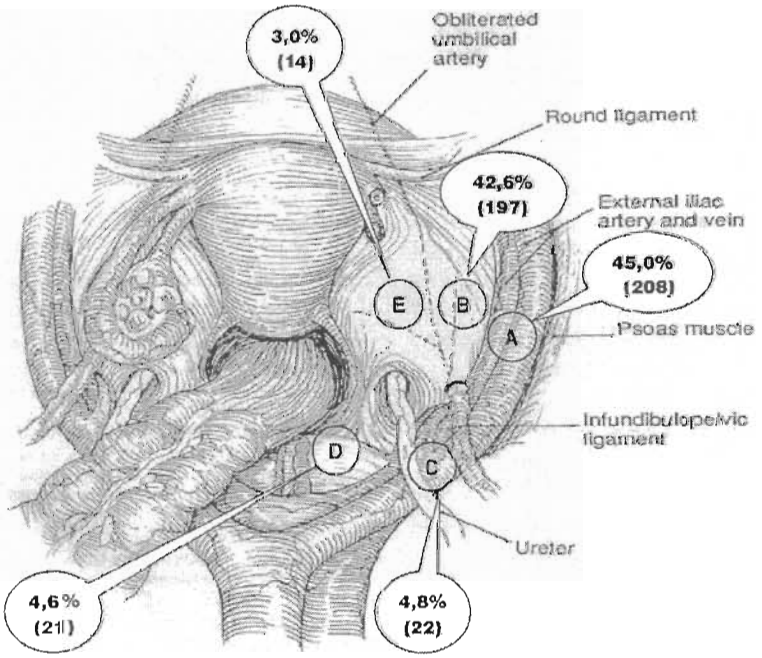


Fig. 1. Distribution of 462 sentinel lymph nodes. The most common site of SLN; A—external iliac vein 45.0%, B—supraobturator space 42.6%, C—common iliac artery 4.8%, D—presacral area 4.6%, E—3.0% in medial part of lateral parametrium.

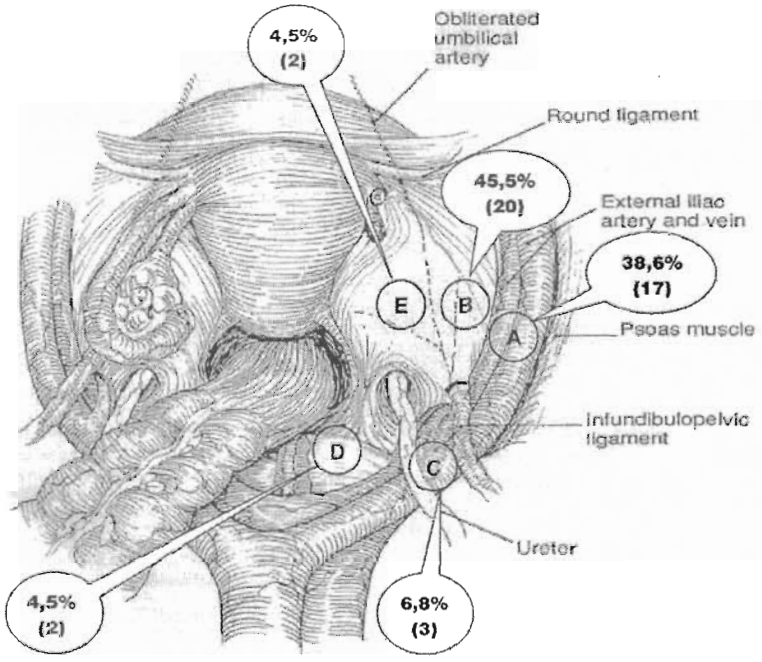


Fig. 2. Distribution of 44 positive sentinel lymph nodes. We found positive SLN; A—external iliac vein 38.6%, B—supraobturator space 45.5%, C—common iliac artery 6.8%, D—presacral area 4.5%, E—in medial part of lateral parametrium 4.5%.

significantly reduces the detection rate. After the introduction of general anesthesia, this procedure allows a correct application of the lymphotropic substance into the tissue surrounding the tumor (peritumorally). The "Short Tc protocol" without preoperative lymphoscintigraphy has a high detection rate, an easier management and is cost effective.

Timing of application

The published studies differ most in the timing of the application [10,12,14,15]. With the Patent blue, only 1 min after the application, blue channels running to the lymphatic nodes become visible. The maximum coloring is achieved between the third and the tenth minute after the application. After this period, the coloring gradually fades. Our pilot experience clearly indicates that adhesiolysis or opening of the retroperitoneum should not be performed prior to blue dye application. If there are adhesions in the small pelvis that do not allow direct visualization of the pelvis, we start adhesiolysis only 3 min after the blue dye application only. Upon identification of blue colored channels and nodes, we move immediately to the other side of the pelvis to identify the lymphatic blue colored channels and nodes. After the above indicated time periods following the application, the detectability of lymphatic channels decreases.

The timing of the radioisotopic tracers application depends on the size of the particles and the half-life of ^{99m}Tc [15,17]. The size of the particles determines when and for how long the activity of the radiocolloid can be detected in sentinel nodes. Small particles may get to higher layers more easily, and they can thus lead to false sentinel nodes, e.g. in the common iliac region or even in the paraaortal region [11,15]. We use colloidal albumin with over 80% particles of 100 to 600 nm in diameter. We ourselves have not detected any sentinel nodes in the paraaortal region similarly as other authors using particles over 200 nm [14,16,17]. Each published study uses a different preoperational timing, starting with the application 1 day before surgery [14,17], 3 to 6 h [15], to an interval shorter than 1 h [16]. These studies combine preoperational identification by lymphoscintigraphy and subsequent detection by a laparoscopic gamma probe or a manual gamma probe. The organization of preoperational radiocolloid application and subsequent lymphoscintigraphy is difficult and costly, and in cervical carcinoma, intraoperational detection is necessary anyway and it is more reliable. We have started using short protocol without lymphoscintigraphy. Radiocolloid was applied intracervically after the application of a general anesthetic in the operation theater. General anesthesia allows uncomplicated and precise application. Patent blue is applied subsequently after visualization of the small pelvis. The first sentinel node is detected and subsequently removed 15 to 20 min after the radiocolloid application. Preoperational detection by a hand held or laparoscopic gamma probe is less expensive and less time demanding, and it still yields very good detection rates.

SLN detection rate

In cervical carcinoma, measurement of the detection rate per patient (DR) is not exact, and we believe that it is necessary to speak about specific side detection rate (SSDR). In our group, we achieved SSDR of 71% with the application of Patent blue and 93.4% with the combination of Patent blue and radiocolloid. This difference is statistically highly significant. Our results confirm a number of previous results in smaller sample groups which indicated that the combination of Patent blue and radiocolloid is better than the application of one detection method only [14,16–18]. In the blue dye group, we detected 1.5 sentinel node on one examined side on average. In the blue dye and radiocolloid group, the average number of detected sentinel nodes was 1.6 per one examined side. A significantly lower detection of 1.1 sentinel node per side was described by Marchiole and Dargent. A low number of sentinel node detection and the use of Patent blue only is likely to be the cause of a higher false negativity [19]. We registered only one false negative node localized in the presacral region.

SLN localization

Sentinel nodes were localized in the external iliac artery and vein region and in the supraobturator region in 85% of cases. Our results confirm a number of previous results in smaller sample groups [9,14–17]. Other localizations were less frequent, but approximately in 5% of cases, it is possible to detect SLN in the common iliac region, presacral region and in the medial part of the lateral parametrium. Paraaortic sentinel lymph nodes were not detected in any patients. The distribution of positive nodes in our group was similar; it was localized in the external iliac artery and vein region and in the supraobturator region. Attention should be paid to sentinel lymph nodes in the presacral area, which is often missing during pelvic lymphadenectomy. This group is the most extensive published group of sentinel nodes and positive sentinel nodes.

Conclusion

The results of our study confirm that a combined use of radioactive isotope and blue dye injection is the optimal procedure for lymphatic mapping in patients with early stage cancer of the uterine cervix. This study extends our knowledge on the pathways of lymphatic spread of cervical cancer. We believe that SLN mapping in cervical cancer is feasible. This method currently allows a more precise examination of the most critical nodes through serial sections and immunohistochemistry. Our "Short Tc protocol" achieved high detection rates. These results must now be confirmed in a multicentric study.

Acknowledgments

This work was supported by grants from NR 8434-3 and MZO-00064203, Ministry of Health, Czech Republic.

References

[1] 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;1:247–59.
[2] Morton DL, Thompson JF, Essner R, Elashoff R, Stern SL, Nieweg OE, et al. Validation of accuracy of intraoperative lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for early-stage melanoma: a multicenter trial. Multicenter Selective Lymphadnectomy Trial Group. Ann Surg 1999;4:453–63.
[3] Giuliano AE, Kirgan DM, Geunther JM, Morton DL. Lymphytic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. Ann Surg 1994:391–402.
[4] Veronesi U, Paganelli G, Galimberti V, Viale G, Zurrida S, Bedoni M, et al. Sentinel-node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer with clinically negative lymph-nodes. Lancet 1997:1864–7.
[5] de Hullu JA, Hollema H, Piers DA, Verheijen RHM, van Diest PJ, Mourits MJE, et al. Sentinel lymph node procedure is highly accurate in squamous cell carcinoma of the vulva. J Clin Oncol 2000;18:2811–6.
[6] de Hullu JA, Oonk MHM, Ansink AC, Hollema H, Jager PL, van der Zee AGJ. Pitfalls in the sentinel lymph node procedure in vulvar cancer. Gynecol Oncol 2004;94:10–4.
[7] Moore RG, Granai CO, Gajewski W, Gordinier M, Steinhoff MM. Parthologic evaluation of inquinal sentinel lymph nodes in vulvar cancer patients: a comparison of immunohistochemical staining versus ultrastaging with hematoxylin and eosin staining. Gynecol Oncol 2003;91:378–82.
[8] Moore RG, DePasquale SE, Steinhoff MM, Gajewski W, Steller M, Noto R, Falkenberry S. Sentinel node identification and ability to detect metastatic tumor to inquinal lymph nodes in squamous cell cancer of the vulva. Gynecol Oncol 2003;89:475–9.
[9] Dargent D, Martin X, Mathevet P. Laparoscopic assessment of the sentinel node in early stage cervical cancer. Gynecol Oncol 2000;79:411–5.
[10] O'Boyle JD, Coleman RL, Bernstein SG, Lifshitz S, Muller CY, Miller DS. Intraoperative lymphatic mapping in cervix cancer undergoing radical hysterectomy: a pilot study. Gynecol Oncol 2000;79:238–43.
[11] Malur S, Krause N, Kohler C, Schneider A. Sentinel lymph node detection in patients with cervical cancer. Gynecol Oncol 2001;80:254–7.
[12] 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.
[13] Rob L, Pluta M, Strnad P, Robova H, Charvat M, Schlegerova D. Sentinel node identification in uterine cervix cancer stage I. A pilot study (abstracts). Gynecol Oncol 2002;84:521.
[14] 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 early stage cervical cancer. Gynecol Oncol 2003;90:290–6.
[15] van Dam PA, Hauspy J, Vanderheyden T, Sonnenemans H, Spaepen A, Eggenstein G, 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;13:182–6.
[16] 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.
[17] Niikura H, Okamura Ch, Akahira J, Takano T, Ito K, Okamura K, et al. Sentinel lymph node detection in early cervical cancer with combination 99mTc phytate and patent blue. Gynecol Oncol 2004;94:528–32.
[18] Coleman RL, Whitten CW, O'Boyle J, Sidhu B. Unexplained decrease in measured oxygen saturation by pulse oximetry following injection of lymphazurin 1% (isosulfan blue) during a lymphatic mapping procedure. J Surg Oncol 1999;70:126–9.
[19] Marchiole P, Buénerd A, Scoazec JY, Dargent D, Methevet P. Sentinel lymph node biopsy is not accurate in predicting lymph node status for patients with cervical carcinoma. Cancer 2004;100:2154–9.

Eur J Clin Microbiol Infect Dis (2006) 25:492–500
DOI 10.1007/s10096-006-0172-5

ARTICLE

Longitudinal study of patients after surgical treatment for cervical lesions: detection of HPV DNA and prevalence of HPV-specific antibodies

R. Tachezy · I. Mikyšková · V. Ludvíková · L. Rob · T. Kučera · V. Slavík · A. Beková · H. Robová · M. Pluta · E. Hamšíková

Published online: 5 August 2006
© Springer-Verlag 2006

Abstract The principal aims of this study were to test whether persistence of human papillomavirus (HPV) DNA is predictive of recurrent disease in women after surgical treatment for cervical lesions, to distinguish between persistent and newly acquired HPV infection, and to observe the effect of surgical treatment on levels of HPV-specific antibodies. A group of 198 patients surgically treated for low-grade and high-grade squamous intraepithelial lesions and 35 age-matched controls were monitored for 18 months at 6-month intervals. The presence of HPV DNA in cervical smears was detected by means of consensus polymerase chain reaction, and serum levels of HPV-specific antibodies to HPV types 16, 18, 31, 33, and 45 were measured. In ten patients positive for HPV type 16 in consecutive samples, the HPV 16 variants were identified using a polymerase chain reaction specific for the long control region. Data regarding demographics, risk factors for cervical cancer, and risks related to HPV exposure were collected through a patient questionnaire. Subjects persistently positive for HPV DNA were more likely to present with cytological and/or colposcopical abnormalities. A higher reactivity to HPV-specific antibodies was observed in these women at the 18-month follow-up visit. All ten patients with HPV 16 infection detected in consecutive samples showed persistence of either the same prototype or the same variant during the follow-up period. Risky sexual behavior and smoking were more common in patients than in controls. Persistent HPV infection as demonstrated by both HPV DNA detection and antibody detection appears to be a risk factor for the recurrence of pathological findings in women after surgery. An individually based approach to surgical treatment is an important factor in the outcome of disease at follow-up.

R. Tachezy (✉) · I. Mikyšková · V. Ludvíková · T. Kučera · E. Hamšíková
Department of Experimental Virology,
Institute of Hematology and Blood Transfusion,
U Nemocnice 1,
128 20 Prague 2, Czech Republic
e-mail: rutach@uhkt.cz

L. Rob · H. Robová · M. Pluta
Obstetrics and Gynecology Clinic,
Department of Oncogynecology, Second Medical Faculty,
Charles University,
V Úvalu 84,
150 00 Prague 5, Czech Republic

V. Slavík · A. Beková
Centre of Gynecology-Oncology Prevention,
Kateřinská 1526/7,
120 00 Prague 2, Czech Republic

Introduction

The treatment of precancerous lesions of the cervix uteri depends primarily on the severity and/or extent of the lesions. Conization has proved to be an effective procedure in the management of high-grade lesions (HGLs). Postoperative recurrence of the lesion has been reported in 5–35% of patients and can be ascribed to treatment failure, newly acquired human papillomavirus (HPV) infection, or reactivation of latent HPV infection [1, 2]. Several studies have been performed to look for an association between the presence of HPV DNA and the clinical outcome after surgical removal of preneoplastic lesions of the cervix [3–8]. Only a few studies monitored the changes in the prevalence of HPV-specific antibodies in treated women. It was found that alterations in the prevalence of antibodies occur after a relatively long period of time [3, 8]. Persistent infection of cervical tissue with high-risk human papillo-

maviruses is believed to be causally linked with the development of cervical carcinoma and its cytological precursors [9–11]. It was shown that, if proper examinations are conducted, the prevalence of HPV in HGLs and cervical carcinoma reaches 100% [12]. About 40 HPV genotypes have been detected in genital lesions [13], with HPV 16 being the most prevalent type both in the healthy population and in patients. More than 40 variants of HPV 16 have been detected and can be classified on the basis of their geographical origin into five phylogenetic lineages [14–17]. The results of several studies suggest that intratype variation is associated with a higher risk of persistence and progression of the disease [18–20]. Sequencing of the long control region, the most variable region of the papillomavirus genome, is the best method to analyze intratype variation for the purpose of differentiation between persistent infection (reactivation) and reinfection [18, 21, 22].

This report summarizes the results of a prospective study of women surgically treated for low-grade and high-grade squamous intraepithelial lesions (LSILs and HSILs). The group of patients selected and the age-matched controls were followed up for 18 months at 6-month intervals. The presence of HPV DNA in cervical smears was detected by means of a polymerase chain reaction (PCR) method, and levels of HPV-specific antibodies to HPV types 16, 18, 31, 33, and 45 were measured in sera. In patients positive for HPV 16 in more than one of the consecutive samples, variants were identified by means of a PCR specific for the long control region to differentiate between persistent and new infection. Additionally, data regarding demographics, risk factors for cervical cancer, and risks related to HPV exposure were collected through a patient questionnaire.

Materials and methods

Population studied

All patients were recruited from the Department of Oncogynecology, Medical Faculty, Charles University, Prague. The Human Subjects Committee of the Institutional Review Board approved all experimental protocols. Altogether, 353 women with cervical lesions were enrolled in the study. Histological analysis allowed identification of 178 women with LGLs (age range: 17–76 years, mean age 36.2 years) and 185 women with HGLs (age range: 20–66 years, mean age 33.5 years). Women with LGLs were treated when the lesion persisted for longer than 24 months or if the lesion extended to all four quadrants of the cervix. All patients and controls enrolled in the study gave written informed consent, and 99.2% of them filled in a patient questionnaire regarding demographics, risk factors for cervical cancer, and risks related to HPV exposure. Fifty-eight women (age range: 18–61 years, mean age: 31.1 years) with no pathological clinical or cytological findings were enrolled as controls.

All patients with exocervical atypical transformation zone (ATZ type I) lesions were treated by large loop excision of the transformation zone and those with endocervical involvement (ATZ types II and III) by "needle" cone excision. Histological analysis of each cone was performed in the standard way. All samples were reviewed independently by two pathologists.

At enrollment and at the 6-, 12-, and 18-month follow-up visits, patients and controls were examined cytologically and colposcopically. In addition, a sample for HPV DNA detection and a blood sample for the detection of HPV-specific antibodies were taken from each of the study subjects. At the end of the follow-up period, a complete set of data (clinical data, HPV DNA smear, and blood analysis data) was obtained from 102 (57.3%) LGL cases (two patients underwent repeated surgery during the follow-up period, clinical data were incomplete for four patients, and 70 patients were lost during follow-up) and from 96 (51.9%) HGL cases (three patients underwent repeated surgery, two patients underwent hysterectomy, one patient was treated by re-loop followed by hysterectomy, incomplete clinical data were available for two patients, and 81 patients were lost during follow-up). Of the control subjects, 44 were followed up for 6 months (two samplings) and 35 for 12 months (three samplings).

In 13 of 198 (6.6%) patients, extension of the lesion to the margins was detected. Only one of these 13 patients showed progression of the disease during follow-up. Therefore, we did not further divide the cases on the basis of involvement of cone margins.

The cytological results at follow-up were classified as normal, minor (if atypical squamous cells of unknown significance, atypical glandular cells of unknown significance (ASCUS/AGUS), and/or LSILs were detected), or severe (if HSILs were detected). Similarly, on colposcopy, an atypical transformation zone, LSILs, and HSILs were categorized as normal, minor, and severe findings, respectively. No LSIL or HSIL findings that would designate the patient for biopsy were detected during follow-up cytological and/or colposcopic examinations. The residual disease specified as "histologically confirmed LGL or HGL" was not detected in our study.

The presence of HPV DNA during follow-up was scored on the basis of detection of HPV DNA in consecutive samples. A score of 1 indicated a positive result and a score of 0 a negative result. On the basis of the results of HPV DNA detection on individual visits, patients were divided into HPV DNA negative (0000, 0100, 0010, 0001), those who cleared HPV infection (1100, 1000), and those who

had persistent infection (1111, 1011, 1101, 1110, 1010, 1001). HPV-DNA-negative women had HPV-DNA-negative samples at enrollment and were positive only once during the follow-up period. Subjects who were HPV DNA positive at enrollment and who were subsequently negative during follow-up or positive 6 months after the treatment and then negative were categorized as patients who cleared the infection. Women who were HPV DNA positive at enrollment and positive in two consecutive samplings were categorized as persistently infected. Women who were HPV DNA positive at enrollment and who had one positive sample at the 12- or 18-month follow-up visit were also considered persistently infected.

All experiments complied with the current laws of the Czech Republic.

HPV DNA detection and typing

HPV DNA was detected by means of PCR followed by Southern blot hybridization. HPV typing was accomplished by dot blot hybridization with oligonucleotide type-specific probes or by sequencing. Cells for HPV DNA analysis were collected, by means of a sterile cervical brush, from the endocervix and transformation zone prior to collection of samples for cytological analysis and colposcopical examination.

Preparation of crude lysates

Cervical brushes were inserted in tubes containing sterile K buffer (50-mM Tris–Cl, pH 8; 1% Tween-20; 5-mM EDTA, pH 8) and stored at 4°C. They were subsequently processed by digestion with proteinase K (Sigma, St. Louis, MO, USA), and crude lysates were stored at −20°C. After every ten samples, one tube with K buffer alone was included to monitor possible carry-over contamination in the process of sample preparation.

PCR and Southern blot hybridization

PCR was performed according to Tachezy et al. [23] with modifications. The integrity of the DNA was confirmed by PCR with primers specific for the human β-globin gene GH20/PC04 [24]. If the result of the control amplification was negative, the sample was extracted with phenol-chloroform and amplification of the control gene was repeated. Controls for monitoring possible carry-over contamination during the processing of the samples were included, as were positive (SiHa cell DNA) and negative (Lep cell DNA, PCR mix with no DNA) controls for the PCR.

DNA transfer and hybridization was performed as specified previously [23] except for the probes that were labeled with digoxigenin-11-dUTP (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) and the oligoprobe for the human β-globin gene that was labeled on the 5′-end with digoxigenin. The hybridization was done overnight at 42°C in 5× high-grade SSC (1×SSC is 0.15-M NaCl plus 0.015-M sodium citrate), 20% formamide, 0.1% Ficoll, 0.01% bovine serum albumin, 50 mmol/l Na_2PO_4, 0.1% sodium dodecyl sulfate (SDS), 0.1 mg/ml Herring sperm DNA, and 2% blocking reagent (Roche Diagnostics). The nonspecifically bound probe was washed twice for 5 min at room temperature in 30 ml of buffer A (2×SSC; 0.1% SDS) and thrice thereafter for 30 min at 50°C in 300 ml of buffer B (0.5×SSC; 0.1% SDS). For the detection, a DIG-Wash and Block Buffer Kit, anti-digoxigenin-AP (FAB fragment) and CSPD ready-to-use (Roche Diagnostics) were used. The membrane was equilibrated in 30 ml of washing buffer and incubated in blocking solution (0.1 mol/l maleic acid, 0.15 mol/l NaCl, 3.5% blocking reagent) for 45 min and in blocking solution with anti-digoxigenin FAB fragment for 30 min. The membrane was washed thrice for 15 min in 30 ml of washing buffer and equilibrated in the detection solution for 5 min. The equilibrated membrane was incubated with CSPD at room temperature for 5 min and at 37°C for 15 min and was exposed on Lumi-Film Chemiluminescent Detection Film (Roche Diagnostics) for 30 min.

Typing of HPV by dot-blot hybridization

Three microliters of each sample exhibiting a 450-bp HPV-specific band after initial PCR and/or hybridization were dot-blotted onto five identical Biodyne B nylon membranes (Pall Biosupport, Portsmouth, UK) using a vacuum dot blot apparatus (Bio-Dot Microfiltration Apparatus; Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). The membranes were prehybridized in 0.1×SSPE (1×SSPE is 10.18-M NaCl, 10-mM $NaPO_4$, and 1-mM EDTA [pH 7.7]) and 0.5% SDS at 65°C for 30 min and hybridized with type-specific oligonucleotide probes 3′-end labeled with digoxigenin (DIG Oligonucleotide 3′-end labeling kit; Roche Diagnostics). Probes for types 6/11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42/54, 45, 51, 52, 53, and 58 were added under high-stringency conditions overnight in 5×SSPE and 0.1% SDS. Membranes were washed in 2×SSPE and 0.1% SDS twice for 10 min at 56°C. Detection was performed as described above.

Typing of HPV by nucleotide sequencing

The 450-bp PCR fragments that failed to hybridize with any of the type-specific HPV probes were cut out of the 2% LG agarose gel (NuSieve; Cambrex Bio Science, Rockland, ME), purified using a Lego Kit (Top-Bio, Prague, Czech Republic) and sequenced with an ABI Prism Big Dye

Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), analyzed by Chromas software, and evaluated by BLAST software http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/).

Characterization of HPV 16 variants

Altogether, 29 samples from ten subjects who were positive for HPV-16 in more than one consecutive sample were analyzed. For amplification of the 682-bp fragment of the 3′ end of the long control region, primers V16C and V16D were used [25]. All samples were amplified twice in two separate reactions. High-fidelity proof-reading Pfu polymerase (Fermentas, Vilnius, Lithuania) was used. Fifty microliters of the reaction mixture contained 20-mM Tris–HCl, pH 8.8, 10-mM $(NH_4)_2SO_4$, 10-mM KCl, 0.1% Triton X-100, 0.1-mg/ml BSA, 2-mM $MgSO_4$, 0.2-mM each dNTP (Fermentas), 0.5 pmol/μl primers V16C and V16D, 1.25 U Pfu polymerase, and 4 μl of the sample. Initial denaturation at 95°C for 5 min was followed by 35 cycles, each consisting of 1 min at 95°C, 1 min at 62°C, and 3 min at 72°C, followed by a final extension at 72°C for 4 min. After adding the 3′ A-overhangs to the amplicons, subcloning to the PCR-4-TOPO vector with a TOPO TA Cloning Kit (Invitrogen, Groningen, Netherlands) was performed according to the manufacturer's protocol. The sequence of one clone from each reaction was obtained by means of an ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). The same primers as for PCR and, additionally, the internal primers V16E and V16F were used for sequencing [25]. All samples were sequenced from both sites, and the consensual sequence was obtained by SeqMan II 3.61 (DNASTAR, Madison, WI, USA). When the sequences of the two clones obtained from two independent PCR reactions were not homologous, two to five additional clones from each reaction were sequenced.

Serological assays

The presence of IgG antibodies to HPV-derived capsids (virus-like particles [VLPs]) mimicking HPV types 16, 18, 31, 33, and 45 was tested using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The antigens were prepared in a recombinant baculovirus system. Similar assays were described elsewhere [26]. Briefly, the wells of microtiter plates were coated with purified VLPs in PBS (Immulon II; Dynatech, Chantilly, VA, USA) at 37°C for 2 h and at +4°C overnight. All subsequent incubations were performed at 37°C for 1 h. Nonspecific binding sites were blocked by incubation with 1% BSA in PBS, and the wells were incubated in duplicate with human sera diluted 1:25 in buffer A (PBS, 0.21 mol/l NaCl, 0.1% Triton X-100) supplemented with 1% BSA. Bound antibodies were detected with horseradish peroxidase conjugated to swine anti-human IgG antibodies (Sevepharma, Prague, Czech Republic) and made visible by staining with *o*-phenylenediamine. The color reaction was stopped by H_2SO_4, and optical density (ODs) at 492 nm were read with a Titertek Multiscan MCC 340 spectrophotometer (Flow Laboratories, Rickmansworth, UK). Background reactivity was determined in wells without antigen. Known positive and known negative control sera were tested on each plate. The cutoff value was the mean plus two standard deviations (SDs) after elimination of the outliers; the mean and SD were calculated for each antigen separately. Before calculation, the absorbance of wells without antigen was subtracted. These values corresponded to the cutoff values obtained with sera from healthy women selected randomly from the general population in the Czech Republic. Care was taken to have all serum samples from one patient on one microtiter plate in the same experiment.

Statistical analysis

The Fisher's exact test and chi-square test for trend were used. The data were analyzed as dichotomous variables. Odds ratios (ORs) with 95% confidence intervals (95% CIs) and p values were calculated by analyzing appropriate contingency tables using the Epi Info 2002 statistical package (CDC, Atlanta, GA, USA). Differences in serological response between positivity at enrollment and positivity in the last sample were analyzed by Wilcoxon matched-pairs signed-rank test using GraphPad InStat software version 3.00. P values lower than 0.05 were considered statistically significant.

Results

Prevalence of HPV DNA at enrollment

The rate of HPV DNA positivity in women with HGLs and LGLs was 93% and 42%, respectively, while that in controls was only 21%. The trend of HPV DNA prevalence to increase with the severity of the disease was highly significant (chi-square test for trend=76.6; $p<0.0001$). HPV 16 was the most prevalent type, accounting for 51.4% of HPV-DNA-positive samples, and its prevalence increased significantly with the disease severity (chi-square test for trend=7.0; $p=0.0081$).

The rates of HPV DNA prevalence were higher in younger patients (79.7% and 57.6% in <30-year-olds and >30-year-olds, respectively, OR=2.9, 95%CI 1.5–5.6; $p=0.001$) but were comparable in both age groups of controls (20.0% vs. 22.7%).

Serological response at enrollment

Similar to the trend observed with the prevalence of HPV DNA, the ratio of seropositive women increased with the severity of the lesion, although the differences were less evident. Regardless of antigen used, women with HGLs showed the highest prevalence of HPV-specific antibodies. Significant values were observed for anti-VLP 16 (chi-square test for trend=13.6; p=0.0002) and antibodies to any VLP tested (chi-square test for trend=9.6; p=0.002).

HPV-specific antibodies to any VLP were more prevalent in younger patients (59.5 vs 39.5%, OR=2.3, 95% CI 1.3–4.0, p=0.009), while in controls, the same prevalence rate was found in both age groups (27.3%).

Differences in reactivity with one or more VLPs tested were observed between particular groups of study subjects. Figure 1 shows the rates of VLP-positive women with single or multiple seroreactivity in each of the study groups. The numbers of sera reactive with more than one HPV VLP type showed an upward trend increasing with the severity of the disease (chi-square test for trend = 9.2, p=0.0024).

The correlation between the presence of HPV DNA and anti-VLP antibodies was calculated for HPV-16-positive subjects, since other types were present only infrequently. The presence of HPV DNA type 16 was significantly correlated with the presence of anti-VLP 16 antibodies both in the entire study group and in the patient group (r=0245, p=0.0013, 95% CI: 0.1–0.4; r=0.283, p=0.001, 95% CI: 0.1–0.4).

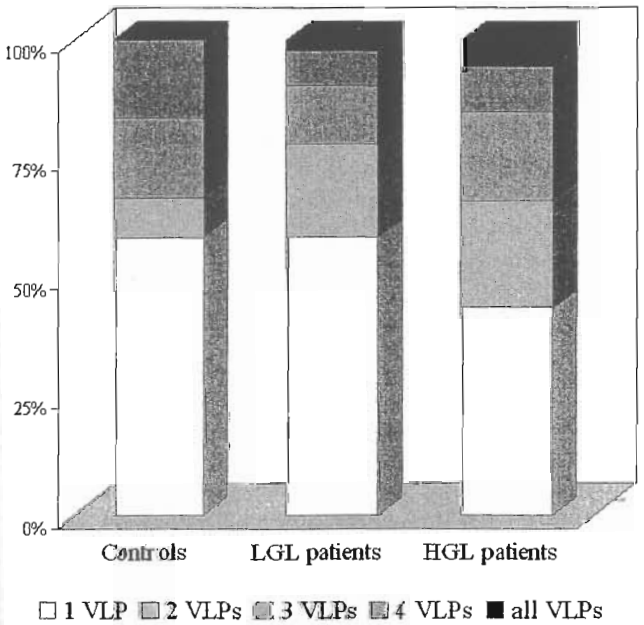


Fig. 1 Serological response at enrollment. Differences in reactivity to one, two, three, four, and any virus-like particles in controls, in patients with low-grade lesions (LGLs), and in patients with high-grade lesions (HGLs) are shown

Risk factors for cervical cancer in the population studied

We analyzed the presence of risk factors known to play a role in the development of severe cervical lesions. Women treated for cervical lesions and monitored for a period of 18 months were included in this analysis. Women persistently infected with HPV smoked more frequently (57.7 vs 30.3%, 95% CI: 1.2–8.0; p=0.015), had more often begun their sexual life before 17 years of age (34.6 vs 13.6%, 95% CI: 1.2–9.8; p=0.026), and were more likely to have more than six consecutive sexual partners (44 vs 18%, 95% CI: 1.3–10.0; p=0.014) than HPV-negative women. All differences were statistically significant.

Similar data were obtained when persistently infected women were compared with those who cleared the HPV infection after treatment (smoking, 45.5 vs 30.3%, 95% CI: 1.0–3.7, p=0.035; first sexual intercourse before the age of 17 years, 30.4 vs 13.6%, 95% CI: 1.2–6.3, p=0.009; and more than six sexual partners, 26.3 vs 18%, 95% CI: 0.7–3.6, p=0.157). Except for the last parameter, the differences were also statistically significant.

Furthermore, persistently infected women were more likely to be single/divorced/widowed than married in comparison with HPV-negative women (50% vs 30.8%, 95% CI: 0.9–5.7; p=0.07) as well as in comparison with women who cleared HPV infection (50 vs 48%). For the latter, the difference was statistically significant (95% CI: 1.1–4.0; p=0.02).

Presence of HPV DNA during follow-up

After the initial diagnosis, all patients were treated surgically. The presence of HPV DNA was then assessed 6, 12, and 18 months after surgery. As evident from Fig. 2, the prevalence of HPV DNA dramatically decreased after the treatment. After 6 months, the prevalence dropped to 22.0% in women with LGLs and to 35.8% in women with HGLs. At the 12-month follow-up visit, the respective prevalence rates were even lower, i.e. 8.8 and 9.4%. Controls who had not been treated showed no difference in the HPV DNA positivity rates at follow-up, which were 21.4, 15.9, and 18.9% after 6, 12, and 18 months, respectively.

Relationship between presence of HPV DNA and cytological/histological changes at follow-up

Altogether, 16 (8.1%) women developed minor cytological and/or colposcopical abnormalities that were detected at any follow-up visit. More of these women were persistently HPV DNA positive than HPV DNA negative at follow-up (11.5 vs 7.6%), but the association was not statistically significant (data not shown). Similarly, more women

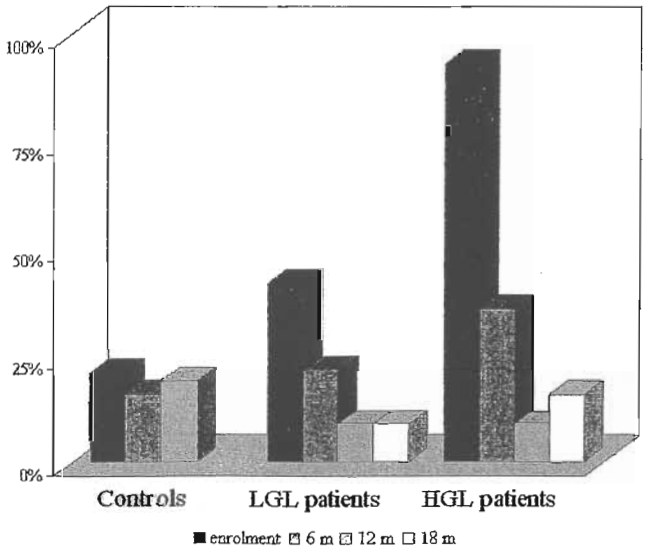


Fig. 2 HPV DNA positivity during follow-up. Rates of HPV DNA positivity during follow-up in controls, in patients with low-grade lesions (LGLs), and in patients with high-grade lesions (HGLs) are shown

persistently infected with HPV had cytological and/or colposcopical abnormalities at the 18-month follow-up visit, 11.5 vs 1.5%, but the difference was not statistically significant (OR=8.5, 95% CI: 0.8–85.7; p=0.067). In seven women, the cytological and/or colposcopical abnormality was detected simultaneously with HPV DNA, while in nine women these findings were not simultaneous.

Presence of HPV 16 variants in consecutive samples

Altogether, 29 samples from ten study subjects who were HPV 16 DNA positive in more than one consecutive sample were analyzed. Seven and three patients were initially treated for HGLs and LGLs, respectively. In two patients we detected the presence of only the HPV 16 prototype in all samples, while in five patients the persistence of a variant was found. In three additional patients, the prototype sequence persisted, but in some samples an additional variant was detected as well. Since the additional variants did not persist, the patients were included in the group with persistent infection with the HPV 16 prototype. Of these ten subjects, only two had suspicious cytological and/or colposcopical findings at the 18-month follow-up visit. One of these patients was infected with the prototype and the other with a variant of HPV 16.

HPV-specific antibodies during the follow-up period

During the 18-month follow-up period, no decrease in the prevalence of specific antibodies was observed in either controls or patients. The strengths of reactions in terms of mean OD values of sera positive for particular VLPs in the enrollment samples and in the last samples from the same HGL patient are given in Table 1. Though the differences were not very pronounced, a statistically significant decrease was found for VLPs 16, 18, and 33.

Women in whom minor cytological and/or colposcopical abnormalities had been detected at any follow-up visit and those with suspicious findings at the 18-month follow-up visit showed higher reactivity to all antigens used when compared with surgically treated women who remained healthy throughout the follow-up period. This difference was statistically significant for VLP 18 (OR=6.9, 95% CI: 1.5–32.3; p=0.019).

Discussion

In the present study, the prevalence of HPV DNA in controls (21%) was comparable with that previously reported in healthy women in the Czech Republic and was much lower than that in women with lesions [23]. The prevalence of HPV DNA in HGL patients reached almost 100%, which demonstrates the very good sensitivity of the MY09/11 PCR system in our laboratory. Similarly, the prevalence of HPV-specific antibodies increased with the disease severity, a trend that was significant for HPV 16, which is the most prevalent type of HPV in the Czech population [23]. A decreasing prevalence of HPV DNA and HPV-specific antibodies was observed with increasing age in patients, while the correlation was inverse in controls. Nevertheless, the difference was not statistically significant, probably due to the small number of controls. Similar observations of the prevalence of HPV-specific antibodies increasing with age in the normal population and decreasing in patients were seen in our previous studies [23, 26].

In our study, risky sexual behavior, smoking, and being single/divorced/widowed were found to be significant risk factors for the persistence of HPV infection. Our observa-

Table 1 Changes in optical density (OD) values for patients with high-grade lesions who were seropositive at enrollment

	VLP 16	VLP 18	VLP 31	VLP 33	VLP 45
No. of samples positive at enrollment	35	22	22	22	5
Mean OD of enrollment sample	514	492	512	491	432
Mean OD of last sample	487	448	511	444	430
P value	0.0265	0.0329	0.9291	0.0251	1

VLP virus-like particle

tion is in line with epidemiological studies of risk factors for both cervical cancer and precancerous lesions that showed that sexual behavior of both women and men is the key risk factor for acquisition of HPV infection and consequent development and progression of the disease. Moreover, it has previously been shown that the persistence of HPV infection is necessary for maintenance and/or progression of the disease [9–11]. Smoking as a risk factor has also been studied extensively, and even after adjustment for the strong effect of HPV infection, smoking was statistically significantly associated with the development of cervical cancer. Furthermore, it has been shown that smokers are less likely to clear HPV infection [27].

In our study, no patient was diagnosed with either LGLs or HGLs at the 18-month follow-up visit. Recurrent disease can occur in patients with free margins but is much more often detected in those (up to 85%) with involved margins. Therefore, detection of positive margins seems to be a risk factor for recurrence of the disease but is not a reliable predictor of recurrence [8]. In our study, only 6.6% of patients (13/198) had involved margins and, except for one, none showed any signs of recurrence of the disease during follow-up. In our opinion, the small number of patients with involved margins reflects the benefit of an individually based approach to the surgical treatment (with large loop excision of the transformation zone being used for exocervical lesions and "needle" cone excision for endocervical lesions). This approach, together with the relatively short follow-up, may explain why no recurrent disease was observed in our study. In other studies in which recurrent disease was detected, positive margins were reported in up to 40% of subjects [3, 8, 28, 29].

The decline in the prevalence of HPV DNA at follow-up is ascribable to the successful removal of the lesions, and the immune response initiated by the surgical procedure is most likely responsible for the further decrease in the HPV DNA prevalence in samples obtained 1 year after treatment. No variation in the prevalence of HPV DNA was observed in untreated controls. A similar observation was made by others [30].

The prevalence rates of HPV-specific antibodies did not change in study patients or controls within the 18-month follow-up period. Decreasing levels of antibodies to HPV-specific antigens have been shown by several teams of researchers, mainly antibodies directed against antigens derived from early virus proteins in successfully treated cervical cancer patients [31–34]. The decrease was much less evident when HPV VLPs were used as antigens [31]. When the reactivity of seropositive enrollment samples from HGL patients, expressed as the mean OD, was compared with that obtained at the 18-month follow-up visit, results similar to those described by Elfgren et al. [3] were found, i.e. a statistically significant decrease in antibodies to HPV types 16, 18, and 33. In our study, reactivity with bacterially produced fusion HPV 16 E6 and E7 proteins was also detected in 11.5% (11/96) of HGL patients, with nine (81.2%) of these patients exhibiting steady or declining titers of these antibodies during follow-up (results not shown).

Persistence of high-risk human papillomaviruses is the most important factor that increases the risk of development and progression of cervical lesions [9]. We found women persistently infected with HPV to be at higher risk for pathological findings than those who either cleared HPV infection or remained HPV DNA negative during the follow-up period. A feasible approach to differentiation of persistent versus new HPV infection for large-scale studies is usually based on the type-specific detection of HPV in two consecutive samples taken 6 months apart. For analysis of the intratype variation, which allows persistent infection (reactivation) to be distinguished from reinfection, sequencing of the noncoding region with the highest mutation rate of the HPV genome has been used [35]. In our study, analyses of the long control region showed persistence of either the HPV 16 prototype or a variant in all consecutive samples for all patients HPV 16 positive in two or more consecutive samples. Mayrand et al. [36] detected identical variants in 92% of consecutive samples. Since only two of ten patients for whom samples for the intratype analyses were available had abnormal cytological and or/colposcopical findings during follow-up, no correlation between persistence of either the HPV prototype or the variants and recurrence of the disease could be found. All variants but one belonged to the European variant group. Similarly, in other European countries, the variants found were mostly the European variants of HPV 16 [14]. Only one variant clustered with the Asian-American geographical group. More aggressive behavior of variants from this group of HPV 16 was observed by others, but in our study, the patient infected with the Asian-American variant did not show recurrence of the disease during follow-up [18, 37, 38].

In summary, this study has shown that persistence of HPV infection, as assessed by detection of HPV DNA and by detection of antibody, is a risk factor for the recurrence of pathological findings in women after surgical treatment. An individually based approach to the surgical treatment appeared to be an important factor in the outcome at follow-up. The intratype-specific persistence of HPV confirmed the assumption that persistent infection, rather than a newly acquired infection, is likely to be responsible for the recurrence of disease. Persistence of high-risk human papillomaviruses is a prerequisite for disease development and/or progression [9]. Since follow-up cytological and colposcopical examinations to determine the outcome of the surgical treatment are sometimes

difficult to interpret, the assessment of the presence or absence of HPV can certainly improve the management of the patients.

Acknowledgement This study was supported by a grant from the Internal Grant Agency of the Ministry of Health, Czech Republic, grant no. NC 7548-3.

References

1. Bollen LJ, Tjong-A-Hung SP, van der Velden J, Mol BW, ten Kate FW, ter Schegget J, Bleker OP (1999) Prediction of recurrent and residual cervical dysplasia by human papillomavirus detection among patients with abnormal cytology. Gynecol Oncol 72:199–201
2. Loizzi P, Carriero C, Di Gesu A, Resta L, Nappi R (1992) Rational use of cryosurgery and cold knife conization for treatment of cervical intraepithelial neoplasia. Eur J Gynaecol Oncol 13:507–513
3. Elfgren K, Bistoletti P, Dillner L, Walboomers JM, Meijer CJ, Dillner J (1996) Conization for cervical intraepithelial neoplasia is followed by disappearance of human papillomavirus deoxyribonucleic acid and a decline in serum and cervical mucus antibodies against human papillomavirus antigens. Am J Obstet Gynecol 174:937–942
4. Kanamori Y, Kigawa J, Minagawa Y, Irie T, Oishi T, Itamochi H, Cheng X, Terakawa N (1998) Residual disease and presence of human papillomavirus after conization. Oncology 55:517–520
5. Chua KL, Hjerpe A (1997) Human papillomavirus analysis as a prognostic marker following conization of the cervix uteri. Gynecol Oncol 66:108–113
6. Nagai Y, Maehama T, Asato T, Kanazawa K (2000) Persistence of human papillomavirus infection after therapeutic conization for CIN 3: is it an alarm for disease recurrence? Gynecol Oncol 79:294–299
7. Lin CT, Tseng CJ, Lai CH, Hsueh S, Huang KG, Huang HJ, Chao A (2001) Value of human papillomavirus deoxyribonucleic acid testing after conization in the prediction of residual disease in the subsequent hysterectomy specimen. Am J Obstet Gynecol 184:940–945
8. Zielinski GD, Bais AG, Helmerhorst TJ, Verheijen RH, de Schipper FA, Snijders PJ, Voorhorst FJ, van Kemenade FJ, Rozendaal L, Meijer CJ (2004) HPV testing and monitoring of women after treatment of CIN 3: review of the literature and meta-analysis. Obstet Gynecol Surv 59:543–553
9. Ho GY, Burk RD, Klein S, Kadish AS, Chang CJ, Palan P, Basu J, Tachezy R, Lewis R, Romney S (1995) Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. J Natl Cancer Inst 87:1365–1371
10. IARC Working Group (1995) Human papillomaviruses. IARC, Lyon, France
11. Liaw KL, Glass AG, Manos MM, Greer CE, Scott DR, Sherman M, Burk RD, Kurman RJ, Wacholder S, Rush BB, Cadell DM, Lawler P, Tabor D, Schiffman M (1999) Detection of human papillomavirus DNA in cytologically normal women and subsequent cervical squamous intraepithelial lesions. J Natl Cancer Inst 91:954–960
12. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Munoz N (1999) Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol 189:12–19
13. de Roda Husman AM, Walboomers JM, Meijer CJ, Risse EK, Schipper ME, Helmerhorst TM, Bleker OP, Delius H, van den Brule AJ, Snijders PJ (1994) Analysis of cytomorphologically abnormal cervical scrapes for the presence of 27 mucosotropic human papillomavirus genotypes, using polymerase chain reaction. Int J Cancer 56:802–806
14. Ho L, Chan S-Y, Burk RD, Das BC, Fujinaga K, Icenogle JP, Kahn T, Kiviat N, Lancaster W, Mavromara-Nazos P, Labropoulou V, Mitrani-Rosenbaum S, Norrild B, Pillai MR, Stoerker J, Syrjänen K, Syrjänen SM, Tay S-K, Villa LL, Wheeler CM, Williamson A-L, Bernard H-U (1993) The genetic drift of human papillomavirus type 16 is a means of reconstructing prehistoric viral spread and the movement of ancient human populations. J Virol 67:6413–6423
15. Tornesello ML, Buonaguro FM, Meglio A, Buonaguro L, Beth GE, Giraldo G (1997) Sequence variations and viral genomic state of human papillomavirus type 16 in penile carcinomas from Ugandan patients. J Gen Virol 78:2199–2208
16. Yamada T, Wheeler CM, Halpern AL, Stewart AC, Hildesheim A, Jenison SA (1995) Human papillomavirus type 16 variant lineages in United States populations characterized by nucleotide sequence analysis of the E6, L2, and L1 coding segments. J Virol 69:7743–7753
17. Yamada T, Manos MM, Peto J, Greer CE, Munoz N, Bosch FX, Wheeler CM (1997) Human papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancers: a worldwide perspective. J Virol 71:2463–2472
18. Xi LF, Koutsky LA, Galloway DA, Kuypers J, Hughes JP, Wheeler CM, Holmes KK, Kiviat NB (1997) Genomic variation of human papillomavirus type 16 and risk for high grade cervical intraepithelial neoplasia. J Natl Cancer Inst 89:796–802
19. Hildesheim A, Wang SS (2002) Host and viral genetics and risk of cervical cancer: a review. Virus Res 89:229–240
20. Tornesello ML, Duraturo ML, Salatiello I, Buonaguro L, Losito S, Botti G, Stellato G, Greggi S, Piccoli R, Pilotti S, Stefanon B, De PG, Franceschi S, Buonaguro FM (2004) Analysis of human papillomavirus type-16 variants in Italian women with cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer. J Med Virol 74:117–126
21. Franco EL, Villa LL, Rahal P, Ruiz A (1994) Molecular variant analysis as an epidemiological tool to study persistence of cervical human papillomavirus infection. J Natl Cancer Inst 86:1558–1559
22. van Belkum A, Juffermans L, Schrauwen L, van Doornum G, Burger M, Quint W (1995) Genotyping human papillomavirus type 16 isolates from persistently infected promiscuous individuals and cervical neoplasia patients. J Clin Microbiol 33: 2957–2962
23. Tachezy R, Hamsikova E, Hajek T, Mikyskova I, Smahel M, Van Ranst M, Kanka J, Havrankova A, Rob L, Guttner V, Slavik V, Anton M, Kratochvil B, Kotrsova L, Vonka V (1999) Human papillomavirus genotype spectrum in Czech women: correlation of HPV DNA presence with antibodies against HPV-16, 18, and 33 virus-like particles. J Med Virol 58:378–386
24. Bauer HM, Ting Y, Greer CE, Chambers JC, Tashiro CJ, Chimera J, Reingold A, Manos MM (1991) Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by a PCR-based method. JAMA 265:472–477
25. Xi LF, Demers W, Kiviat NB, Kuypers J, Beckmann AM, Galloway DA (1993) Sequence variation in the noncoding region of human papillomavirus type 16 detected by single-strand conformation polymorphism analysis. J Infect Dis 168:610–617
26. Hamšíková E, Ludvíková V, Šmahel M, Sapp M, Vonka V (1998) Prevalence of antibodies to human papillomaviruses in the general population of the Czech Republic. Int J Cancer 77:689–694
27. IARC Working Group (2005) IARC handbooks of cancer prevention: cervix cancer screening. IARC, Lyon, France
28. Chao A, Lin CT, Hsueh S, Chou HH, Chang TC, Chen MY, Lai CH (2004) Usefulness of human papillomavirus testing in the

follow-up of patients with high-grade cervical intraepithelial neoplasia after conization. Am J Obstet Gynecol 190:1046–1051
29. Houfflin Debarge V, Collinet P, Vinatier D, Ego A, Dewilde A, Boman F, Leroy JL (2003) Value of human papillomavirus testing after conization by loop electrosurgical excision for high-grade squamous intraepithelial lesions. Gynecol Oncol 90:587–592
30. Nobbenhuis MA, Helmerhorst TJ, van den Brule AJ, Rozendaal L, Voorhorst FJ, Bezemer PD, Verheijen RH, Meijer CJ (2001) Cytological regression and clearance of high-risk human papillomavirus in women with an abnormal cervical smear. Lancet 358:1782–1783
31. Hamšíková E, Ludvíková V, Tachezy R, Kovařík J, Břoušková L, Vonka V (2000) Longitudinal follow-up of antibody response to selected antigens of human papillomaviruses and herpes viruses in patients with invasive cervical carcinoma. Int J Cancer 86:351–355
32. Dillner J (1993) Disappearance of antibodies to HPV 16 E7 after treatment for cervical cancer. Lancet 341:1594
33. Fisher SG, Benitez-Bribiesca L, Nindl I, Stockfleth E, Muller M, Wolf H, Perez-Garcia F, Guzman-Gaona J, Gutierrez-Delgado F, Irvin W, Gissmann L (1996) The association of human papillomavirus type 16 E6 and E7 antibodies with stage of cervical cancer. Gynecol Oncol 61:73–78
34. Baay MFD, Duk JM, Burger MPM, Debruijn HWA, Stolz E, Herbrink P (1999) Humoral immune response against proteins E6 and E7 in cervical carcinoma patients positive for human papilloma virus type 16 during treatment and follow-up. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 18:126–132
35. Xi LF, Demers W, Kiviat NB, Kuypers J, Beckmann AM, Galloway DA (1993) Sequence variation in the noncoding region of human papillomavirus type 16 detected by single-strand conformation polymorphism analysis. J Infect Dis 168:610–617
36. Mayrand MH, Coutlee F, Hankins C, Lapointe N, Forest P, de Ladurantaye M, Roger M (2000) Detection of human papillomavirus type 16 DNA in consecutive genital samples does not always represent persistent infection as determined by molecular variant analysis. J Clin Microbiol 38:3388–3393
37. Londesborough P, Ho L, Terry G, Cuzick J, Wheeler C, Singer A (1996) Human papillomavirus genotype as a predictor of persistence and development of high-grade lesions in women with minor cervical abnormalities. Int J Cancer 69:364–368
38. Zehbe I, Wilander E, Delius H, Tommasino M (1998) Human papillomavirus 16 E6 variants are more prevalent in invasive cervical carcinoma than the prototype. Cancer Res 58:829–833

Int J Gynecol Cancer 2007, **17**, 304–310

Less radical fertility-sparing surgery than radical trachelectomy in early cervical cancer

L. ROB*, M. CHARVAT*, H. ROBOVA*, M. PLUTA*, P. STRNAD*, M. HREHORCAK* & P. SKAPA†

**Division of Gynecologic Oncology, Department of Obstetrics and Gynecology and †Department of Pathological Anatomy and Molecular Medicine, Charles University Prague, 2nd Medical Faculty, Prague, Czech Republic*

Abstract. Rob L, Charvat M, Robova H, Pluta M, Strnad P, Hrehorcak M, Skapa P. Less radical fertility-sparing surgery than radical trachelectomy in early cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2007;**17**:304–310.

The purpose of this pilot study was to determine feasibility and safety of a novel and less radical fertility-preserving surgery; laparoscopic lymphadenectomy with sentinel lymph node identification (SLNI) followed by large cone or simple trachelectomy. Obstetrical and oncologic outcomes were evaluated. Twenty-six patients (6-IA2, 20-IB1) selected on basis of favorable cervical tumor characteristics and the desire to maintain fertility underwent laparoscopic SLNI, frozen section (FS), and a complete pelvic lymphadenectomy as first step of treatment. All of nodes were submitted for microscopic evaluation (sentinel nodes for ultramicrostaging). After a 7-day interval, large cone or simple vaginal trachelectomy was performed in patients with negative nodes. The average of sentinel nodes per side was 1.50 and the average of total nodes was 28.0. Four FS were positive (15.4%). In these cases, Wertheim radical hysterectomy type III was immediately performed. We had no false-negative SLN neither on FS nor on final pathology assessment. Median follow-up was 49 months (18–84). One central recurrence (isthmic part of uterus) was observed 14 months after surgery. This patient was treated with radical chemoradiotherapy, and there was no evidence of the disease 36 months after treatment. Fifteen women planned pregnancy, 11 women became pregnant (15 pregnancies), and 7 women delivered eight children (one in 24 weeks, one in 34 weeks, one in 36 weeks, and five between 37 and 39 weeks). We conclude that lymphatic mapping and SLNI improves safety in this fertility sparing surgery. Large cone or simple trachelectomy combined with laparoscopic pelvic lymphadenectomy can be a feasible method with a high successful pregnancy rate.

KEYWORDS: cervical cancer, fertility-sparing surgery, radical trachelectomy, sentinel lymph node, simple trachelectomy.

The mean age of primiparous women has recently been found to increase. Similarly, the number of women planning motherhood after the age of 30. It is therefore evident that the desire to preserve fertility is strong in many of these patients. The development of laparoscopic surgery led to the first fertility-preserving laparoscopic lymphadenectomy with radical trachelectomy performed in 1987 by Dargent et al[1,2]. Since then laparoscopic lymphadenectomy with radical trachelectomy has become the most frequent procedure for conservative, uterus preserving treatments employed in cases of early-stage invasive cervical carcinoma in women planning pregnancy[2–7]. We performed the first lymphadenectomy with radical trachelectomy at our department in cooperation with Dargent in 1997. This procedure gradually became an accepted solution for tumor stages IA2 and IB1 up to a maximum of 20 mm in largest diameter. Oncologic results of more than 300 published cases are acceptable and do not differ significantly from radical procedures[2–7]. Likewise, the reproductive results are satisfactory despite the significantly increased number of premature deliveries[1,4,7–11]. The sentinel lymph node mapping technique improved our knowledge about the lymphatic drainage of cervical carcinoma[12–17]. Our experience with sentinel lymph node mapping enabled us to

Address correspondence and reprint requests to: Lukas Rob, MD, PhD, Department of Obstetrics and Gynaecology, 2nd Medical Faculty, Charles University Prague, V uvalu 84, 150 00 Prague 5, Czech Republic. Email: lukas.rob@lfmotol.cuni.cz

doi:10.1111/j.1525-1438.2007.00758.x

© 2007, Copyright the Authors
Journal compilation © 2007, IGCS and ESGO

employ this method in the management of conservative surgeries in cases of early cervix carcinoma and to reduce the radicality of the medial part of the lateral parametria[15,16]. We performed large cone (stage IA2) or simple trachelectomy (IB1) in women with negative histologic findings of sentinel nodes (frozen section [FS] and ultramicrostaging) and negative findings of other pelvic nodes. In this article, we are presenting our management of less radical surgery as compared with radical trachelectomy, as well as oncologic results and reproductive outcomes.

Materials and methods

From January 1999 to July 2004, 26 women (mean age 28.0 years) underwent laparoscopic sentinel lymph node identification (SLNI) (blue dye or blue dye + Tc) as a first step of conservative uterus sparing surgery. The desire to preserve fertility was strong in all 26 patients. Inclusion criteria were a tumor size less than 20 mm in the largest diameter representing less than half of the cervical stroma on magnetic resonance imaging (MRI) and ultrasonography (US) volumetry and serum squamous cell carcinoma levels within a normal range. All the diagnostic biopsies performed were subjected to second readings and systematically processed. We routinely performed preoperational tumor volumetry by transvaginal ultrasound in all women exploiting an 8 MHz transvaginal probe on Acuson Sequoia 512 and performed preoperative magnetic resonance volumetry using Gyroscan ACS-15NT Power Track 1000 (Phillips, The Netherlands), with a magnetic field of 1.5 T[16]. The study was approved by the ethical committee of our institution. All patients signed informed consent and all were counseled that the procedure was not standard therapy at the time. The timing of application (short protocol), technique of application (blue dye or Tc and blue dye), laparoscopic SLNI technique, and pathologic evaluation (FS and ultramicrostaging) of the sentinel nodes technique were described in our previous publication[16]. Having sent the sentinel nodes for FS, we performed a complete pelvic laparoscopic lymphatic node dissection and parametrial node dissection as the first step of our management. If the FS was found positive, laparoscopy was terminated and we continued with laparotomic radical hysterectomy (Wertheim type III) and lower para-aortic lymphadenectomy. All nodes were submitted to microscopic assessment: sentinel nodes for serial sectioning and immunohistochemical staging. Other nodes were subjected to standard assessment[16]. In 7-day intervals in patients with negative nodes, large cone in stage IA2 or simple trachelectomy in stage IB1 was performed as a second step in our procedure (Fig. 1). Large cone, which spare more stromal tissue than simple trachelectomy, was performed with needle (0.7 × 40 mm, Biogyn s.n.c., Florence, Italy) that was connect to LETZ (loop excision transformation zone) equipment (RF 300 Electrosurgery System, Engineering Production Equipment Medical, Italy). We cut endocervical edge with scissors. In our modification, simple trachelectomy begins with paracervical and intracervical instillation of 60–80 mL of solution with a vasoconstrictive substance (adrenaline in normal saline solution diluted 1:100,000). Depending on the extent of the tumor on the exocervix, the incision of vaginal mucosa was made circumferentially to create a vaginal cuff. The cervix was then paracervically skeletonized by dissection with scissors to the extent of 25–30 mm, we mobilized bladder and paracervical tissue, then we ligated descendent branches of uterine artery. This step is the same as the first step of simple vaginal hysterectomy. When we do not performed resection of parametrium, we do not have to mobilize ureters upward. The cervix was amputated with an incision approximately 7–10 mm above the tumor. We then employed a high frequency of 10–12 mm small loop (Biogyn s.n.c.) to create an endocervical channel to the depth of approximately 5 mm. The vaginal mucosa was then reapproximated circumferentially by individual sutures in the outer fringe created by the small loop. Cerclage was not performed. All pregnancies were managed as high risk and prophylactic administration of antibiotics was advocated. We elaborated the experimental protocol of the antibiotics administration after the first premature labor in this group of patients. Between weeks 15 and 17, we routinely administered prophylactic antibiotics in 5 days (clindamycin 300 mg every 8 h orally or metronidazole 250 mg every 8 h orally); between weeks 20 and 22, we prescribed vaginal treatment (Clindamycin 2% cream one times daily 5 days); and between weeks 24 and 26, we repeated the antibiotic treatment orally. Prior to the treatment, we examined the vaginal culture, the results of which might lead to the modification of antibiotic administration. We do not use routinely steroid prophylaxis to accelerate lung maturity. All patients in our study completed the minimum 18-month follow-up.

Results

From January 1999 to July 2004, 26 women fulfilled the inclusion criteria and were admitted into the study. Table 1 summarizes patient and tumor characteristics. The mean age of the 26 patients was 28.0 years

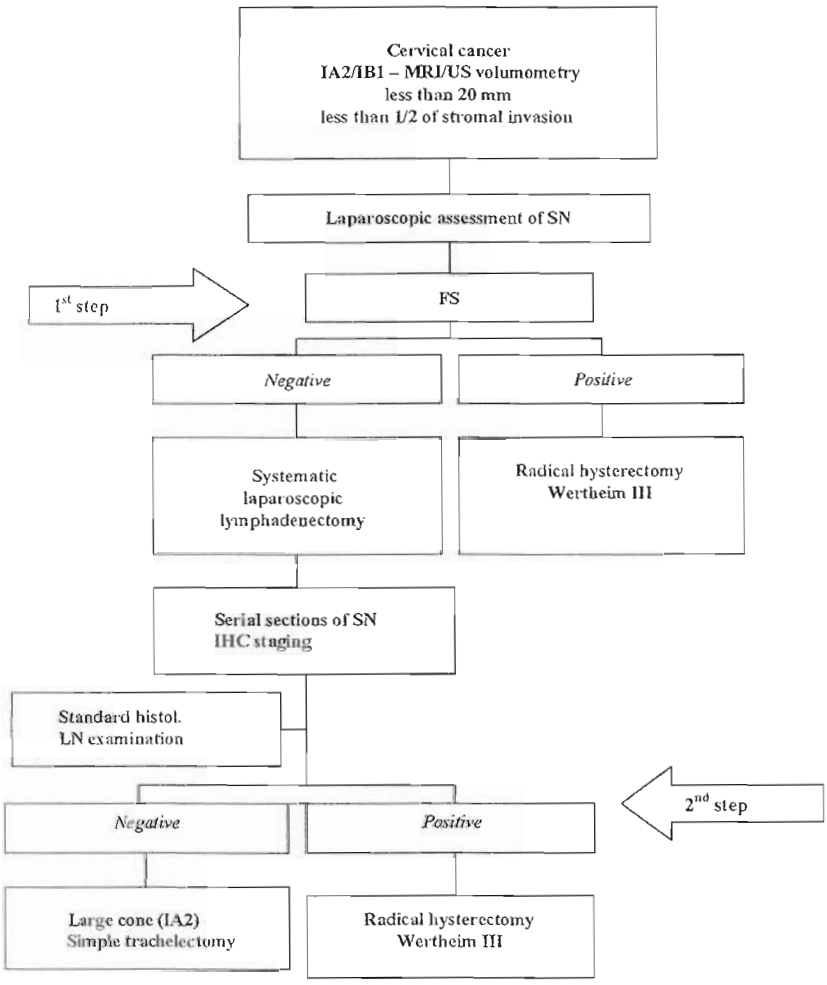


Figure 1. SNLI and conservative surgery.

(24–35). Fifteen of the women were nulliparous, ten had one child, and one woman had three children. Of the cancers, 80.8% were squamous cell (21 cases), 15.4% were adenocarcinomas (4 cases), and 3.8% were adenosquamous (1 case). The majority of patients 76.9% (20 cases) were classified as stage IB1 disease and 23.5% (6 cases) as stage IA2. Of the tumors, 46.2% were histologic grade 1, 34.6% were grade 2, and 19.2% were grade 3. Vascular space invasion (VSI) was found in 10 cases (38.5%) and was not proven in the remaining 16 cases (61.5%). In four cases, VSI was not mentioned in the primary reference record but was described in the second reading. The preoperative diagnosis was established by loop electro excision procedure or conisation in 16 patients (61.5%) and by cervical biopsy in 10 patients (38.5%).

Table 2 describes the operative details and surgical outcomes. The first step of our procedure was laparoscopic detection of sentinel nodes. We detected sentinel nodes in all women (detection rate per patient = 100%). The specific side detection rate of SLN in patients was 83.3% (Patent blau) and 94.1% (Patent blau + Tc). The average sentinel nodes per side was 1.50 (range 1–3). Four women had positive lymph nodes on FS (15.4%); in these cases, Wertheim radical hysterectomy (type III) with low para-aortic lymphadenectomy was performed. In cases of negative FS after SLNI, systematic laparoscopic pelvic lymphadenectomy was continued. The average total gain of lymphatic nodes was 28.0 (range 14–36). After laparoscopic lymphadenectomy, the procedure was completed and deep cone (7 women) or simple trachelectomy (15 women) was performed 7 days after the final histopathologic processing of the dissected nodes. In this study, all women with positive nodes were detected on FS. Serial sectioning and immunohistochemical detection did not confirm any further metastasis. Furthermore, there were no false-negative SLN results on final pathology. Residual tumor was determined in all ten women after biopsy and in six women after conisation.

Table 1. Patient and tumor characteristics

Characteristics	Number of patients = 26
Mean age	28.0 (24–35)
Prior pregnancies	
None	11
Abortions	4
One child	10
Two children	0
Three children	1
Stage IA2	6
Stage IB1	20
Invasion <5 mm	2
Invasion 5–10 mm	12
Invasion >10 mm	6
Grade 1	12
Grade 2	9
Grade 3	5
Histology	
Squamous	21
Adenocarcinoma	4
Adenosquamous	1
VSI positive	10
VSI negative	16
Diagnosis	
Cone or loop electro excision procedure	16
Biopsy alone	10

We found in one case mild dysplasia in posttrachlectomy loop specimen, the lesion did not involve margins.

Intraoperative laparoscopic complications occurred in two patients: one vascular injury of the external iliac vein related to the lymphadenectomy, which was repaired laparoscopically, and one uterine vascular injury during laparoscopic identification of lymphatic channel and sentinel nodes in the medial part of the lateral parametrium. There were no complications related to large cone or simple trachelectomy procedures. No blood loss that required a blood transfusion occurred and there were no urethral injuries.

The median follow-up was 49 months (range 18–84). In our sample, we have so far recorded only one recurrence in the isthmic part of the uterus (patient number 5, stage IB1, LETZ invasion 8 mm, diameter 7 mm with angioinvasion, 27 negative nodes, subsequent trachelectomy, only a small foci cervical intraepithelial neoplasia 1 without evidence of invasive carcinoma, small endocervical loop was negative). The recurrence was diagnosed by colposcopy 14 month after the treatment (Papanicolaou smear was negative 4 month ago). MRI shows tumor 23 × 18 mm in isthmic part of the uterus. We indicated chemoradiotherapy with regard to the volume and the localization of tumor and also with regard to the previous surgery. After the treatment, the woman is in complete remission. During the follow-up, an abnormal cytologic finding (high grade squamous intraepithelial lesion) was detected in one of the women who was determined to be high risk human papillomavirus (HR-HPV) positive. The patient preferred uterus removal and the histopathology examination after hysterectomy confirmed cervical intraepithelial neoplasia 2. All other patients demonstrated no colposcopic or cytologic symptoms of the disease.

Table 2. Treatment details and surgical outcomes

DR	
SLNI—blue dye	DR = 100%, SSDR = 83.3%
SLNI—blue dye + Tc99	DR = 100%, SSDR = 94.1%
Average SLN per side	1.5 (1–3)
False-negative SLN	0
FS outcomes	
FS positive	4 (15.4%)
FS negative	22 (84.6%)
Mean pelvic lymph node yield	28.0 (14–36)
Large cone	7 (26.9%)
Trachelectomy	15 (57.7%)
Radical hysterectomy	4 (15.4%)

DR, detection rate; SSDR, specific side detection rate.

Table 3 presents pregnancy details and results. Fifteen out of 20 women whose reproductive ability had been maintained tried to conceive. Altogether, we recorded 15 pregnancies in 11 women. In three cases, assisted reproduction methods were applied (twice by IUI [intrauterine insemination] and once by IVF [in vitro fertilization]). Seven mothers gave birth to eight children; in only one case, premature delivery occurred in the 24th week of pregnancy. The child, with a birth weight of 650 g, is alive and in good health. One born in the 34th week of gestation weighed 2240 g, one born in the 36th week of gestation weighed 2650 g, and the other five deliveries occurred between 37th and 39th weeks. All children are reported to be in good health. One woman decided on elective abortion for personal reasons and one woman was diagnosed with a very rare intraabdominal pregnancy that was treated surgically. Another woman miscarried twice in

Table 3. Pregnancy outcome

Saving fertility	20
Wishing pregnancy	15
Pregnant women	11
Eight children (1 × IUI, 1 × IVF)	1 × 650 g (24th week) 1 × 2240 g (34th week) 1 × 2650 g (36th week) 5 (37–39th week)
Interruption	1
Abdominal ectopic pregnancy	1
Spontaneous abortion I trimester	2
Spontaneous abortion II trimester (1 × IUI)	2
Ongoing pregnancy (18 weeks)	1

Table 4. Comparison of obstetrical outcome

	Schlaerth *et al.*[7], $n = 12$	Burnett *et al.*[6], $n = 21$	Shepherd *et al.*[4], $n = 30$	Mathevet *et al.*[11], $n = 95$	Bernardini *et al.*[9], $n = 80$	Plante *et al.*[5], $n = 72$	Rob *et al.*, $n = 26$
Pregnancies/women	4/4 women	3/3 women	14/8 women	56/34 women	22/18 women	50/31 women	15/11 women
First trimester losses							
SAB	0	0	4 (29%)	9 (16%)	3 (14%)	8 (16%)	2 (13%)
TAB	0	0	0	3	0	2	1
Ectopic	0	0	0	2	0	0	1
Second trimester losses	2 (50%)	1 (33%)	1 (7%)	8 (14%)	1 (4.5%)	2 (4%)	2 (13%)
Third trimester deliveries	2 (50%)	2 (66%)	9 (64%)	34 (61%)	18 (82%)	36 (72%)	8 (53%)
24–28 weeks	0	1	3		2	2	1
29–32 weeks	1	0	1	5	1	1	0
33–36 weeks	0	0	3		3	5	2
>37 weeks	1 (50%)	1 (50%)	2 (22%)	29 (85%)	12 (67%)	28 (72%)	5 (63%)
Ongoing pregnancy							1 (18 weeks)

SAB, spontaneous abortion; TAB, therapeutic abortion.

the first trimester. In one case, the IUI resulted in the conception of triplets, and at our recommendation, the patient agreed to a reduction to a singleton. In this case, septic miscarriage occurred in the 16th week. One woman miscarried in 22nd week of pregnancy after the premature rupture of membrane. Obstetrician did not respect our recommendation about antibiotic prophylaxis. At the time of evaluation (by March 2006), there was one pregnancy in progress (18th week of gestation).

Discussion

It is agreed that for pre- and intraoperational considerations about the patients eligibility to perform conservative fertility preserving treatment in early stages of cervical carcinoma, it is important to determine precisely the extent of the stromal involvement and to define histologic features as well as to exclude lymphonodal spread. Involvement of the cervical stroma can be determined by the evaluation of the depth of the invasion, the largest tumor diameter and (probably the best method) the tumor "volumetry" that defines tumor size and cervix dimensions. Currently, the best method in the measurement of residual tumor after biopsy or conisation is the combination of magnetic resonance and expert ultrasonographic examination[18,19,20]. Most centers accept the tumor size of less than 20 mm in the largest diameter as a limiting criterion for conservative uterus preserving treatments[3,4,5,7,9]. In our view, the extent of cervix infiltration should not exceed 50% of the stroma in MRI and US volumetric assessment as the most important factor. More extensive infiltration would not allow us to achieve the intact tissue cuff in the amputated section of the cervix. The question of how much of endocervical margin suffices as adequate therapy is currently under debate[7,8,21,22]. We consider 7 mm in the stroma and from the endocervical margin as an acceptable minimum. For the preservation of fertility, it is important at the same time to preserve the functional remaining cervical stroma of more than 10 mm. Therefore, it is clear that infiltration of 50% or more of the stroma is not compatible with the above mentioned criteria.

The preoperation biopsy yields further information about the tumor type and the degree of VSI. There is good agreement concerning the prognostic importance of these factors in conservative operations[3,4,5,7]. We considered some rare and aggressive histopathologic carcinoma types (neuroendocrine, small cell) unsuitable for conservative surgeries. In our sample, VSI, which is probably the most debated factor in early stages of cervical carcinoma, was evidenced in 38.5% (10/26) of the

cases. VSI depends on histopathologic processing, and its presence increases the risk of lymphatic nodes involvement. Although we consider the VSI finding a risk factor, we do not think it is a contraindication of conservative surgery if the pelvic nodes are negative.

The most important prognostic factor in early stages of cervical carcinoma is the positive or negative status of regional pelvic nodes. The sensitivity of all accessible preoperative imaging methods (lymphography, computed tomography, magnetic resonance imaging, positron emission tomography-computed tomography) to be insufficient for the identification of metastases smaller than 10 mm. The studies of sentinel nodes detection with radiocolloid technetium and blue dye further contributed to a better understanding of pelvic lymphatic drain[16,23]. SLNI is a highly sensitive method that enables intraoperative detection of metastatic foci in regional nodes and subsequent treatment of the most risky nodes[12–17,23]. Laparoscopic identification of sentinel nodes includes identification of blue-stained lymphatic channels in the medial part of the lateral parametrium, potential identification of blue-stained nodes in this region and their dissection and extirpation. Narrow lymphatic channels in the medial part of the lateral parametrium mostly run across the obliterated umbilical artery in the direction of supraobturator or external iliac region to the first sentinel node, and less often in the direction of the presacral or along the common iliac vessels. Sentinel nodes in this medial part of the parametrium are found only very rarely in early stages of cervical carcinoma[16,24]. Positive findings in lymphatic nodes should lead to the withdrawal of the conservative approach. In early stages of cases of negative pelvic nodes, it is very rare to detect positivity in the medial part of the parametrium, which is resected during radical hysterectomy or radical trachelectomy[16,23,24]. The less radical procedure we currently employ in conservative operations follows the hypothesis that the removal of the medial part of the parametrium in such an early stage (IA2, IB1 less than half of stromal invasion) with negative ultramicrostaging of sentinel nodes and negativity in other pelvic nodes might not be important in preventing recurrence.

Recently, Plante et al.[5] analysed the oncologic results of 310 women (6 centers) subjected to radical trachelectomy (4.1% recurrences and 2.5% deaths). One central recurrence (1/22, 4.5%) occurred (in the isthmic part of the uterus) 14 months after surgery. This patient was treated with radical chemoradiotherapy, and 36 months later there was no evidence of the disease. Even though this sample of "reduced radicality" conservative operations is small, the oncologic results are comparable with the results of a radical trachelectomy sample.

In our study, we experienced complications and morbidity only in relation to the laparoscopic part of the operation. Large cone or simple trachelectomy was without complications in our study, and we did not have problems at follow-up with stenosis of the cervix stump related to the technique employed.

The pregnancy outcomes in our study were highly satisfactory. Thus, far, 73% (15/11) of the patients who tried to conceive succeeded. Two women after conisation and nine women after simplex trachelectomy conceived. We managed all pregnancies as high risk, the greatest potential risk being the possibility of a decreased barrier for the infection resulting in chorioamnionitis, and the premature rupture of membranes. First pregnancy in this group terminated prematurely in the 24th week as a result of the premature rupture of membranes and chorioamnionitis with delayed onset of labor. We advocate prophylactic administration of antibiotics. In our current management, we do not recommend sexual intercourse after the 12th week of pregnancy. If more than 10 mm of the cervix is successfully preserved, cervical incompetence (dilatation) was not a problem, even without cerclage. However, the newly created and shortened cervix represents an easier entry point for ascendant infections, and we agree with other centers that it is the greatest problem after simple as well as radical trachelectomies[4,8–11]. The obstetrical outcomes after vaginal radical trachelectomy and a detailed review of the literature were published by Plante et al. (Table 4)[10].

The importance of the medial part of parametrium removal in clinical stage IA2 and small IB1, tumors with negative sentinel nodes and negative other pelvic nodes still remains controversial. In our opinion, the subgroup of patients with negative nodes could be candidates for less excessive parametrial tissue removal with less related morbidity rather than for radical trachelectomy. Two-step management facilitated by ultramicrostaging of sentinel nodes increases the safety of conservative procedures. Pregnancy outcomes in this group of patients are excellent.

Acknowledgments

This work was supported by a grant from NR 8434-3 and MZO-00064203, Ministry of Health, Czech Republic.

References

1 Dargent D, Brun JL, Roy M, Remy I. Pregnancies following radical trachelectomy for invasive cervical cancer [abstract]. *Gynecol Oncol* 1994;52:105.

2 Dargent D, Martin X, Sacchetoni A, Mathevet P. Laparoscopic vaginal radical trachelectomy: a treatment to preserve the fertility of cervical carcinoma patients. *Cancer* 2000;88:1877–82.
3 Covens A, Shaw P, De Petrillo J, Lickrish G, Laframboise S. Is radical trachelectomy a safe alternative to radical hysterectomy for patient with stage IA-B carcinoma of the cervix? *Cancer* 1999;86:2273–9.
4 Shepherd JH, Mould T, Oram DH. Radical trachelectomy in early stage carcinoma of the cervix: outcome as judged by recurrence and fertility rates. *BJOG* 2001;108:882–5.
5 Plante M, Renaud MC, Francois H, Roy M. Vaginal radical trachelectomy: an oncologically safe fertility—preserving surgery. An update series of 72 cases and review on the literature. *Gynecol Oncol* 2004;94:614–23.
6 Burnett AF, Roman LD, O'Meara AT, Morrow CP. Radical vaginal trachelectomy and pelvic lymphadenectomy for preservation of fertility in early cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 2003;88:419–23.
7 Schlaerth JB, Spirtos NM, Schlaerth AC. Radical trachelectomy and pelvic lymphadenectomy with uterine preservation in the treatment of cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:29–34.
8 Petignat P, Stan C, Megevand E, Dargent D. Pregnancy after trachelectomy: a high-risk condition of preterm delivery. Report of a case and review of the literature. *Gynecol Oncol* 2004;94:575–7.
9 Bernardini M, Barrett J, Seaward G, Covens A. Pregnancy outcomes in patients after radical trachelectomy. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:1378–82.
10 Plante M, Renaud MC, Hoskins IA, Roy M. Vaginal radical trachelectomy: a valuable fertility-preserving option in the management of early-stage cervical cancer. A series of 50 pregnancies and review of the literature. *Gynecol Oncol* 2005;98:3–10.
11 Mathevet P, de Kaszon EL, Dargent D. Fertility preservation in early cervical cancer. *Gynecol Obstet Fertil* 2003;31:706–12.
12 O'Boyle JD, Coleman RL, Bernstein SG, Lifshitz S, Muller CY, Miller DS. Intraoperative lymphatic mapping in cervix cancer undergoing radical hysterectomy: a pilot study. *Gynecol Oncol* 2000;79:238–43.
13 Malur S, Krause N, Kohler C, Schneider A. Sentinel lymph node detection in patients with cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2001;80:254–7.
14 Levenback C, Coleman RL, Burke TW *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.
15 Rob L, Pluta M, Strnad P, Robova H, Charvat M, Schlegerova D. Sentinel node identification in uterine cervix cancer stage I [abstract]. A pilot study. *Gynecol Oncol* 2002;84:521.
16 Rob L, Strnad P, Robova H *et al.* Study of lymphatic mapping and sentinel node identification in early stage cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2005;98:281–8.
17 van Dam PA, Hauspy J, Vanderheyden T *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;13:182–6.
18 Sahdev A, Jones J, Shepherd JH, Reznek RH. MR imaging appearance of the female pelvis after trachelectomy. *Radiographics* 2005;25:41–52.
19 Wagenaar HC, Trimbos JB, Postema S *et al.* Tumor diameter and volume assessed by magnetic resonance imaging in the prediction of the outcome for invasive cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2003;82:474–82.
20 Chou CY, Hsu KF, Wang ST, Huang SC, Tzeng CC, Huang KE. Accuracy of three-dimensional ultrasonography in volume estimation of cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 1997;66:89–93.
21 Tanguay C, Plante M, Renaud MC, Roy M, Tetu B. Vaginal radical trachelectomy in the treatment of cervical cancer: the role of frozen section. *Int J Gynecol Pathol.* 2004;23:170–5.
22 Morice P, Dargent D, Haie-Meder C, Duvillard P, Castaigne D. First case of a centropelvic recurrence after radical trachelectomy: literature review and implications for the preoperative selection of patients. *Gynecol Oncol* 2004;92:1002–5.
23 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.
24 Covens A, Rosen B, Murphy J *et al.* How important is removal of the parametrium at surgery for carcinoma of the cervix? *Gynecol Oncol* 2002;84:145–9.

Accepted for publication July 11, 2006

Identifikace sentinelových lymfatických uzlin u časných stadií cervikálních karcinomů

Cas. Gynek.
69, 2004, č. 4
s. 273-277

Sentinel Lymph Node Mapping in Early-Stage Cervical Cancer

Rob L.[1], Charvát M.[1], Robová H.[1], Strnad P.[1], Pluta M.[1], Schlegerová D.[2]
[1]Gynekologicko-porodnická klinika, 2. LF UK, FN Motol, Praha, přednosta doc. MUDr. L. Rob, CSc.
[2]Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK, FN Motol, Praha, přednosta prof. MUDr. R. Kodet, CSc.

Structured Abstract

Objective: The aim of this study was to determine the utilization and usefulness of intraoperative lymphatic mapping and sentinel node identification with Patent blau in early stage cervical cancer.

Design: Prospective case observational study.

Setting: Department of Obstetrics and Gynecology, Charles University, 2nd Medical Faculty, Faculty Hospital Motol, Prague.

Methods: From February 2000 to July 2002, 100 patients undergoing surgery for early cervical cancer were included, 21 patients undergoing SNI (sentat laparoscopy and 79 patients undergoing SNI at the time of radical abdominal hysterectomy after installation of blue dye (PatentBlau V 2.5%). We carefully inspected the lymphatic channels and sentinel nodes and performed a preoperative frozen section of sentinel nodes. Finally, complete lymphadenectomy was done.

Results: There was one false – negative result in the group of 100 women. In the group of tumors less than 20 mm the detection rate was 90.5% when laparoscopic detection was performed and 91.7% in laparotomic detection. In tumors more than 20 mm the detection rate was 80% and in the group of 25 women with „bulky" tumors IB2 after neoadjuvant chemotherapy the detection was 60% only. We analysed locoregional distribution of 176 sentinel lymph nodes in 75 women not undergoing neoadjuvant chemotherapy and distribution of 20 positive sentinel nodes.

Conclusion: Detection of sentinel nodes in early stages of cervical carcinomas using patent blue dye is a easy-to-perform, feasible and cheap method. Additional studies are necessary using radioisotope to improve detection rate. Another prospective studies should evaluate the role of SNI in reduction in surgical radicality.

Key words: sentinel node, cervical cancer, patent blau, radicality

Strukturovaný souhrn

Cíl studie: Cílem studie je ověřit přínos a využitelnost peroperační detekce sentinelových lymfatických uzlin pomocí patentové modři u časných stadií cervikálních karcinomů.

Typ studie: Klinická prospektivní studie s pozorováním jednotlivých případů.

Název a sídlo pracoviště: Gynekologicko-porodnická klinika 2. LF UK, FN Motol, Praha.

Metodika: Od února 2000 do července 2002 bylo do studie zařazeno 100 žen s časným stadiem cervikálního karcinomu. Detekce sentinelových uzlin byla provedena po aplikaci patentové modři (PatentBlau V 2,5%) v 21 případech laparoskopicky a 79 případech laparotomicky. Po aplikaci jsme identifikovali lymfatické cévy a sentinelové uzliny, které byly peroperačně vyšetřeny mraženými řezy. Následně byla u všech žen provedena systematická pánevní lymfadenektomie.

Výsledky: V souboru 100 žen jsme zaznamenali jeden případ falešné negativity sentinelových uzlin. Ve skupině nádorů do 20 mm jsme dosáhli detekce 90,5% u laparoskopicky provedené detekce a 91,7% u laparotomicky provedené detekce. U nádorů větších než 20 mm byla detekce 80% a u skupiny 25 žen s „bulky" IB2 nádory po neoadjuvantní chemoterapii bylo detekováno pouze 60 %. Analyzována distribuce 176 sentinelových uzlin u 75 žen bez adjuvantní chemoterapie a distribuce 20 pozitivních sentinelových uzlin.

Závěr: Detekce sentinelových uzlin u časných stadií cervikálních karcinomů patentovou modří je snadná, laciná a poskytuje dobré výsledky. Je třeba dalších studií v kombinaci s radioizotopem techneciа k zvýšení detekční schopnosti. Další prospektivní studie musí vyhodnotit možnosti přínosu detekce sentinelových uzlin k redukci radikality léčby cervikálních karcinomů.
Klíčová slova: sentinelová uzlina, cervikální karcinom, patentová modř, radikalita

ÚVOD

Základním trendem současné onkologické péče je dosažení maximálního přežití pacientů při zajištění co nejnižší morbidity. Minimalizace morbidity je v mnoha případech spojena s redukcí radikality chirurgické léčby. Peroperační detekce sentinelových uzlin (SLN) je jedním z perspektivních směrů. Sentinelová uzlina je definována jako první lymfatická uzlina mezi nádorem a celým lymfatickým systémem. Detekce sentinelových uzlin je v současnosti standardní součástí chirurgické léčby maligního melanomu a karcinomu prsu. Pro detekci sentinelových uzlin se dnes využívá dvou metod – lymfotropní patentové modři a radioizotopu technecia. Největší zkušenosti s detekcí sentinelových uzlin v gynekologické onkologii jsou u karcinomu prsu a vulvy. Naše práce se zabývá významem detekce sentinelových uzlin pomocí patentové modři pro management konzervativních operací karcinomu hrdla děložního se zaměřením na perspektivy využití této metody v budoucnu. Prezentované práci předcházela pilotní studie 18 pacientek provedená v době od listopadu 1999 do února 2000.

MATERIÁL A METODIKA

Od února 2000 do července 2002 jsme na naší gynekologicko-porodnické klinice provedli detekci sentinelových uzlin v souboru 100 pacientek s karcinomem děložního hrdla ve stadiích IA2 a IB2. Laparoskopickou operací jsme provedli v 21 případech, laparotomii u 79 žen. Všechny pacientky souhlasily se zařazením do studie podle protokolu a po informovaném souhlasu. Průměrný věk našeho souboru byl 41,3 roku. Spinocelulární karcinom byl histopatologicky diagnostikován v 84 případech, adenokarcinom ve 14 případech a u dvou žen byl zjištěn adenoskvamózní karcinom. Pacientky byly rozděleny podle velikosti nádoru do tří skupin: karcinomy děložního hrdla stadia IA2 a IB2 menší než 20 mm, karcinomy stadia IB větší než 20 mm a karcinomy stadia IB2 po třech cyklech neoadjuvantní chemoterapie. Před zahájením léčby byla u 78 žen provedena magnetická rezonance (MR) a ultrasonografie (UZ) děložního hrdla, u 22 žen bylo provedeno pouze předoperační ultrazvukové měření velikosti nádoru. U všech pacientek v laparoskopické skupině a ve skupině neoadjuvantní chemoterapie (NAC) byla provedena obě vyšetření MR i UZ. Laparoskopické operace podstoupily pouze pacientky první skupiny (nádory menší než 20 mm). U prvních 94 žen souboru byla k detekci použita pouze patentová modř (Patent Blau V 2,5 %), u posledních šesti pacientek též v kombinaci s radiokoloidem technecia. Ve vlastní práci hodnotíme pouze výsledky s detekcí patentovou modří, jejíž výhodou je jednak přímá vizualizace lymfatických cév a uzlin, ale také nižší cena a snadnější dostupnost nevyžadující spolupráci s oddělením nukleární medicíny. Standardně jsme používali 4 ml patentové modři, kterou jsme nijak neředili. Do každého kvadrantu děložního hrdla jsme po vizualizaci malé pánve při laparotomii či laparoskopii jehlou aplikovali 1 ml patentové modři u čísla 2, 4, 8 a 10. Nejdůležitější zásadou a podmínkou kvalitní vizualizace je aplikace do lůžka nádoru (tumor bed) a jeho laterálních okrajů, modř se nesmí aplikovat do vlastního nádoru. Předoperační magnetická rezonance nebo ultrazvukové vyšetření nám pomáhá identifikovat optimální hloubku aplikace. Za sentinelovou jsme považovali pouze první „modře" zabarvenou uzlinu, přičemž v některých případech byly dobře viditelné zbarvené lymfatické cévy mířící k více uzlinám, dokonce v různých etážích. Sentinelové uzliny byly po exstirpaci odeslány na histopatologické vyšetření. Bylo provedeno peroperační vyšetření lymfatických uzlin ze zmrazeného řezu. Uzliny do průměru 10 mm byly zpracovány v celém rozsahu a prokrájeny řezy o tloušťce 5 μ na sklíčko po každých 50 μ. Zbylé řezy byly ponechány na definitivní zpracování. Lymfatické uzliny o průměru větším než 10 mm byly rozříznuty na poloviny, jedna polovina byla peroperačně zpracována stejným způsobem jako menší uzliny, druhá polovina byla zpracována až po fixaci. Peroperační hodnocení: 1. metastázy větších rozměrů, 2. mikrometastázy v periferním splavu, od velikosti drobných shluků nádorových buněk až po organoidně uspořádané mikrometastáze, 3. peroperačně suspektní nález, 4. peroperačně negativní nález. Definitivní zpracování sentinelových lymfatických uzlin bylo provedeno po zalití do parafínu. Imunohistochemické vyšetření bylo provedeno u nejistých nálezů v širokospektrém cytokeratinu. Po exstirpaci sentinelových uzlin jsme ve všech případech pokračovali v systematické pánevní lymfadenektomii.

Statistické vyhodnocení. Rozdíly mezi jednotlivými skupinami jsme statisticky analyzovali. Pro srovnání jsme použili dvoustranný Fischerův exaktní test. Křížový poměr (odds ratio – OR) s 95% intervaly spolehlivosti (CI) a hodnotu P jsme vypočítali pomocí 2x2 kontingenčních tabulek v programu a GraphPadInStat (verze 3.05 – GraphPad Software, San Diego, California).

VÝSLEDKY

V první skupině žen s karcinomem hrdla děložního IA2 a IB1 menším než 20 mm jsme provedli laparoskopickou identifikaci sentinelových uzlin ve 21 případech. Sentinelové uzliny byly za-

Tab. 1. Identifikace sentinelových uzlin

	Počet žen	Detekce SLN		Detekce SLN		Detekce na 1 stranu	Počet SLN	Pozitivita SLN/ počet žen		Falešná negativita
				oboustranně	jednostranně					
1. IA2/IB1 < 20 mm laparoskopicky	21	19	90,48 %	16	3	83,33 %	53	3	14 %	0
2. IB1 < 20 mm laparotomicky	24	22	91,67 %	18	4	83,33 %	65	4	16,67 %	0
3. IB ≥ 20 mm	30	24	80,00 %	18	6	70,00 %	58	8	26,67 %	1
1-3 celkem	75	65	87,38 %	52	13	78,89 %	176	15	19 %	1
4. IB2 NAC	25	15	60 %	10	5	50 %	37	5	20,00 %	0

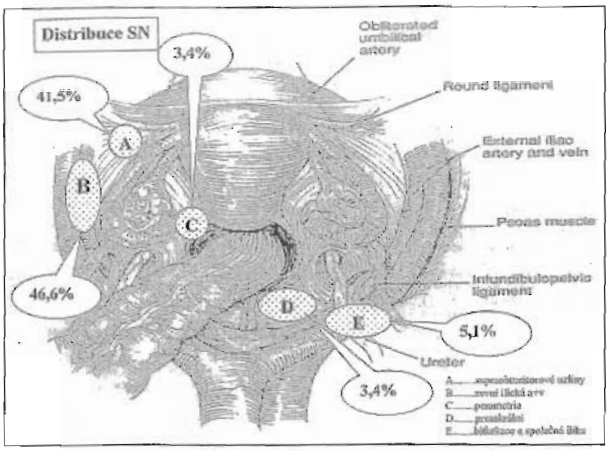
NAC – neoadjuvantní chemoterapie
SLN – sentinelová uzlina

chyceny u 19 pacientek (90,5 %). V 16 případech oboustranně, třikrát pouze na jedné straně. Na jednu stranu pánevních lymfatik bylo 83,3 % detekcí. Sentinelové uzliny byly pozitivní u tří žen (14,3 %). Celkem bylo označeno 53 uzlin jako sentinelová uzlina (1,5 uzliny na detekovanou stranu). Včetně sentinelových uzlin bylo v následné systematické lymfadenektomii získáno průměrně 26 uzlin (11-41). Peroperačně byly identifikovány všechny tři pozitivní případy a nebyla zaznamenána falešná negativita (tab. 1).

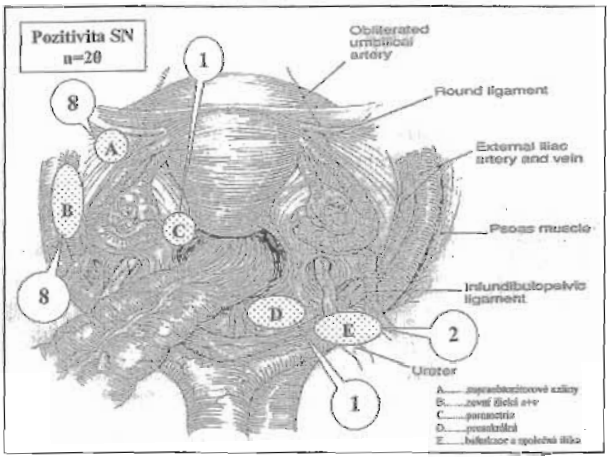
V druhé skupině žen s karcinomem děložního hrdla IB1 menším než 20 mm jsme provedli laparotomickou identifikaci sentinelových uzlin u 24 žen. Sentinelové uzliny jsme identifikovali ve 22 případech (91,7 %). V 18 případech oboustranně a čtyřikrát jednostranně. Na jednu stranu pánevních lymfatik bylo 83,3 % detekcí. Sentinelové uzliny byly pozitivní u čtyř žen (16,7 %). Celkem bylo označeno 65 uzlin jako sentinelová uzlina (1,6 uzliny na detekovanou stranu). Průměrné množství všech získaných lymfatických uzlin bylo 34 (19-68). Peroperačně byly identifikovány všechny čtyři pozitivní případy a nebyla zaznamenána falešná negativita (tab. 1).

Třetí skupinu tvořilo 30 žen s karcinomem děložního hrdla IB větším než 20 mm, operovaných primárně radikálně. Všechny pacientky této skupiny byly operovány laparotomickou cestou. Sentinelové uzliny byly identifikovány u 24 žen (80 %). V 18 případech oboustranně, šestkrát jednostranně a na jednu stranu bylo 70 % detekcí. Pozitivní sentinelové uzliny byly u 8 pacientek (26,7 %), u jedné ženy byla zaznamenána falešně negativní sentinelová uzlina (pozitivní byla jedna uzlina presakrální, která nebyla označena jako sentinelová uzlina). V této skupině bylo celkem 9 žen s pozitivními uzlinami, tj. 30 % (tab. 1). Celkem bylo označeno 58 uzlin jako sentinelová uzlina (1,4 uzliny na detekovanou stranu). Průměrné množství všech získaných lymfatických uzlin bylo v této skupině 34 uzlin (18-51) (tab. 1). Rozdíly v detekci sentinelových uzlin mezi skupinou 1 versus 2 versus 3 nejsou statisticky významné.

Ve čtvrté skupině bylo 25 žen se spinocelulárním karcinomem děložního hrdla stadia IB2 po neoadjuvantní chemoterapii. Pacientky byly operovány laparotomicky radikální hysterektomií po 3 cyklech kombinované chemoterapie (cisplatina, ifosfamid) v odstupu průměrně 14 dnů od poslední chemoterapie. V této skupině bylo odstraněno průměrně 32 uzlin (16-58). Sentinelové uzliny jsme identifikovali u 15 žen (60 %). V 10 případech oboustranně, pětkrát pouze na jedné straně, detekcí na jednu stranu bylo 50 %. U pěti žen byly sentinelové uzliny pozitivní (20 %). Skupinu pacientek po neoadjuvantní chemoterapii neuvádíme v celkovém přehledu lokalizace sentinelových uzlin a lokalizace pozitivity sentinelových uzlin (tab. 1). Změny po chemoterapii negativně ovliv-



Obr. 1. Distribuce - lokalizace sentinelových uzlin



Obr. 2. Distribuce - lokalizace pozitivních (s metastázami) sentinelových uzlin

ňují schopnost detekce a využití detekce sentinelové uzliny je v této skupině sporné, neboť nelze předpokládat možnost redukce radikality (tab. 1). Statisticky významné (p = 0,008) (OR 4,33, CI 1,53-12,3) jsou rozdíly v detekci mezi skupinou 1, 2, 3 versus 4 s NAC.

Na obrázku 1 je lokalizace 176 identifikovaných sentinelových uzlin u žen bez předchozí léčby. V oblasti zevní ilické arterie a vény bylo identifikováno 82 sentinelových uzlin (46,6%), v supraobturátorovém prostoru bylo odstraněno 73 sentinelových uzlin (41,5%). V bifurkaci ilických arterií a na společné ilické arterii bylo identifikováno 9 uzlin (5,1%), v presakrální oblasti 6 uzlin (3,4%) a 6 uzlin bylo detekováno v mediální části laterálních parametrií (3,4%). Obrázek 2 ukazuje distribuci 20 pozitivních sentinelových uzlin u 15 žen. Pouze u jedné pacientky byla detekována pozitivní uzlina v laterálním parametriu, ale v tomto případě byla pozitivní sentinelová uzlina i na zevní ilické véně. Nejčastěji jsme detekovali pozitivní sentinelové uzliny v oblasti zevní ilické arterie a vény – 8 pozitivních SLN (40%) a v supraobturátorovém prostoru také 8 pozitivních uzlin (40%). Dvě pozitivní sentinelové uzliny byly v oblasti od bifurkace výše na společné ilice (10%) a jedna žena měla pozitivní lymfatickou uzlinu v mediální části laterálního parametria (5%). U jedné ženy byla identifikována pozitivní sentinelová uzlina v presakrální oblasti. Zde byla lokalizována i pozitivní uzlina u jednoho případu falešné negativity sentinelové uzliny.

DISKUSE

Peroperační hodnocení lymfatických uzlin laparotomickou nebo laparoskopickou cestou pomocí patentové modři je úspěšné zejména u malých nádorů děložního hrdla do 20 mm, kde lze dosáhnout vysoké úspěšnosti detekce sentinelových uzlin [1, 2, 4, 5, 7]. V našem souboru není rozdíl mezi úspěšností laparoskopické nebo laparotomické detekce (90,5% versus 91,7%) u časného stadia cervikálního karcinomu. Úspěšnost detekce u větších (objemnějších) nádorů v našem souboru klesala. Tento rozdíl však v našem souboru není statisticky významný. Nižší úspěšnost u nádorů větších než 20 mm je zřejmě dána obtížnější a méně přesnou aplikací. V případě aplikace patentové modři do nádoru se výrazně snižuje schopnost identifikace sentinelových uzlin. Látku je třeba aplikovat laterálně od nádoru, do tzv. „lůžka" nádoru – mezi spodinu a zdravé stroma. Pokud nádor infiltruje většinu nebo téměř celé hrdlo děložní, je správná aplikace velmi obtížná. Vedle místa je důležité i časování aplikace. Nejlepších výsledků v identifikaci lze dosáhnout díky přímé vizualizaci průběhu lymfatických kanálů. Aplikaci provádíme až po vizualizaci orgánů a cév malé pánve. Nesmíme rozrušovat adheze a retroperitoneum otevíráme za 3 až 5 minut po intracervikální aplikaci patentové modři. U pacientek po neoadjuvantní chemoterapii není použití patentové modři vhodné [7]. V důsledku chemoterapie totiž vzniká hypoxie v nádoru, následně nekróza a je porušeno jak cévní, tak i lymfatické řečiště v děložním hrdle [7]. U melanomu, karcinomu prsu a vulvy se schopnost detekce zvyšuje při kombinaci metod patentové modři a radiokoloidu technecia. Předpokládáme, že i u karcinomu děložního hrdla zvýší kombinace obou metod schopnost detekce. Naše v současné době probíhající pilotní studie i recentní literární údaje o tom svědčí [5, 6, 8]. Užití radioizotopu je finančně náročnější a vyžaduje dodržování zásad radiační ochrany a úzkou spolupráci s oddělením nukleární medicíny [3].

Identifikace sentinelových uzlin již nyní umožňuje sériové zpracování těchto „rizikových" uzlin peroperačně, a tím i racionální využití ultramikrostagingu, včetně následné imunohistochemické detekce mikrometastáz. Tato vyšetření nelze v praxi provádět u všech získaných uzlin. Peroperační zhodnocení sentinelové uzliny i ultramikrostaging

pouze sentinelových uzlin je časově i ekonomicky dostupný. V našem souboru byla z patnácti žen s postiženými uzlinami v časných stadiích u pěti identifikována mikrometastáza. Není zcela jasné, jaký význam pro přežití a případnou recidivu má identifikace mikrometastázy v periferních splavech lymfatických uzlin. Dříve v určitém malém počtu případů s negativními uzlinami a poměrně malým nádorem v děložním hrdle nastala proti všem předpokladům recidiva. Byly to nádory s mikrometastázami v uzlinách, které jsme nedetekovali, a které tudíž nedostaly adjuvantní léčbu? Bude adjuvantní terapie ovlivňovat počet recidiv a přežití u těchto pacientek?

Časná i pozdní mortalita u radikálních hysterektomií prováděných pro karcinomy děložního hrdla je více spojena s rozsahem resekce předních, mediální části laterálních a zadních parametrií. Je možné redukovat radikalitu v oblasti parametrií? Na základě našeho souboru i souborů z dalších, v současné době publikovaných prací je pravděpodobné, že lymfatické cévy vedou poněkud jinak, než jsme se učili v anatomii. Prvními postiženými jsou nejčastěji sentinelové uzliny v oblasti zevní ilické arterie či vény a v supraobturátorovém prostoru. U karcinomu děložního hrdla stadia IA2 a IB1 nacházíme pozitivitu v mediální části laterálního parametria, v předních i zadních parametriích až při pozitivitě uzlin v jiných lokalitách, nejčastěji na zevní ilické arterii a véně. Z tohoto důvodu se domníváme, že redukce radikality při negativitě sentinelové uzliny v oblasti mediální části laterálních parametrií je možná a že výrazně sníží morbiditu pacientek. Tato myšlenka je nyní diskutována pro návrh EORTC studie, jejímž je první autor předkladatelem. Všechny ženy s nádorem děložního hrdla do velikosti 20 mm a s infiltrací hrdla menšího než do poloviny stromatu by měly podstoupit laparoskopickou lymfadenektomii s hodnocením sentinelových uzlin peroperačně s následným ultramikrostagingem. Budou-li uzliny pozitivní, je indikována radikální hysterektomie nebo primární chemoradiace, a budou-li negativní, může být teoreticky provedena méně radikální operace trachelektomie nebo prostá vaginální hysterektomie.

ZÁVĚR

Kvalita života se stává stále více diskutovaným tématem v léčbě onkologických pacientek. Snížením radikality chirurgické léčby snížíme i morbiditu, nelze však snížit morbiditu za cenu vyšší mortality, musí to být naprosto bezpečné. Detekce sentinelových uzlin a jejich ultramikrostaging by nám k tomu do budoucna mohl pomoci. V naší praxi má zatím největší význam peroperační detekce sentinelových uzlin u konzervativních, dělohu zachovávajících operací. Další prospektivní studie mohou odpovědět na otázku, zda peroperační negativita sentinelových uzlin umožní u časných stadií odpovědět na otázku, zda peroperační negativita sentinelových uzlin umožní u časných stadií redukci radikality resekce parametrií a nebo i redukci rozsahu radikality lymfadenektomie u časných stadií invazivních karcinomů. V dalších studiích je třeba ověřit význam kombinace patentové modři a radioizotopu technecia k zvýšení schopnosti detekce sentinelových uzlin a vyhodnotit význam ultramikrostagingu sentinelových uzlin.

Práce vznikla s podporou grantu IGA MZ ČR – NH 6488-3.

LITERATURA

1. **Dargent, D., Martin, X., Mathevet, P., et al.:** Laparoscopic assessment of sentinel lymph node in early stage cervical cancer. Gynecol. Oncol., 2000, 79, p. 411-415.
2. **Malur, S., Krause, N., Kohler, C., Schneider, A.:** Sentinel lymph node detection in patients with cervical cancer. Gynecol. Oncol., 2001, 80, p. 254-257.
3. **Mendl, M., Peters-Engl, C., Schutz, P., et al.:** First report of lymphatic mapping with isosulfan blue dye and sentinel node biopsy in cervical cancer. Anticancer. Res., 2000, 20, p. 1133-1134.
4. **Plante, M., Roy, M.:** New approaches in the surgical management of early stage cervical cancer. Curr. Opin. Obstet. Gynecol., 2001, 13, p. 41-46.
5. **Plante, M., Renaud, M.-C., Bernard, T., et al.:** Laparoscopic sentinel node mapping in early – stage cervical cancer. Gynecol. Oncol., 2003, 91, p. 494-503.
6. **O'Boyle, J. D., Coleman, R. L., Bernstein, S. G., et al.:** Intraoperative lymphatic mapping in cervix cancer patients undergoing radical hysterectomy: A pilot study. Gynecol. Oncol., 2000, 79, p. 238-243.
7. **Rob, L., Pluta, M., Strnad, P., et al.:** Sentinel node identification in uterine cervix cancer stage. I. A pilot study. Gynecol. Oncol., abstr., 2002, 84, p. 521.
8. **Verheijen, R. H., Pijpers, R., van Diest, P. J., et al.:** Sentinel node detection in cervical cancer. Obstet. Gynecol., 2000, 96, p. 135-138.

Doc. MUDr. Lukáš Rob, CSc.
Gynekologicko-porodnická klinika 2. LF UK
a FN Motol
V Úvalu 84
150 06 Praha 5
e-mail: lukas.rob@lfmotol.cuni.cz

Fertilitu zachovávající operace u časného stadia karcinomu děložního hrdla dnes a zítra

Čes. Gynek.
71, 2006, č. 4
s. 302-307

Fertility Sparing Surgery in Early Cervical Cancer Today and Tomorrow

Rob L.[1], Charvát M.[1], Robová H.[1], Pluta M.[1], Strnad P.[1], Hrehorčák M.[1], Kačírek J.[1], Chmel R.[1], Škapa P.[2], Táborská K.[3]

[1]Gynekologicko-porodnická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, přednosta doc. MUDr. L. Rob, CSc.

[2]Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol, Praha, přednosta prof. MUDr. R. Kodet, CSc.

[3]Klinika nukleární medicíny a endokrinologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, přednosta doc. MUDr. P. Vlček, CSc.

Structured Abstract

Objective: **Describtion and evaluation of proposed protocol for conservative, fertility sparing surgeries in the treatment of early stages of cervical cancer and its comparison to most frequently used protocols regarding its reproductive and oncological outcomes.**

Design: **Prospective clinical study.**

Setting: **Department of Obstetrics and Gynecology, Charles University Prague, 2nd Medical Faculty, University Hospital Motol.**

Patients and Methods: **24 patients that fitted into the inclusion criteria were recruited in the study (6 in stage T1A2 and 18 T1B1). Inclusion criteria were: tumor less than 20 mm in largest diameter, less than ½ of the stromal invasion, SCC serum levels within normal range, signed informed consent. Minimum follow up was 24 months. Described therapeutic protocol, evaluation of oncological and reproductive outcomes and comparison with different fertility sparing regimens were performed.**

Results: **In four cases (16.7%) peroperative histopatghological evaluation (frozen section: FS) detected metastatic involvement of lymphatic nodes. In one case (4.1%) following 14 months since initial surgery, reccurent disease in uterine isthmus was detected. The patient underwent chmotherapy and she is 36 months in complete remission. In the series of 15 women planning pregnancy 11 subjects become pregnant so far. Eight deliveries occurred (one in 24th week of gestation – 650g, one in 34w – 2240g, one in 36w – 2700g and five between 37 - 39w). Only one newborn was delivered in the cathegory of extreme prematurity.**

Conclusion: **Sentinel node detection involving peroperative histopathological evaluation followed by subsequent serial processing and together with 2-step therapeutic management increases efectivity of fertility sparing surgeries. Less radical surgery on uterine cervix: reconisaton (in stage IA2) or simple trachelectomy (in early stage T1B1) with negative finding after laparoscopic lymph node dissection has comparative results with radical trachelectomy and abdominal radical trachelectomy. Pregnancy rates and pregnancy outcomes particularly regarding in term delivery is the best after treatment of early stages of cervical cancer using proposed protocol, while very promising results are published in studies with radical vaginal trachelectomy as well. Results published for the patients treated with abdominal radical trachelectomy are unsatisfactory.**

Key words: **cervical cancer, sentinle lymph nodes, laparoscopic lymphadenectomy, trachelectomy, pregnancy**

Strukturovaný souhrn

Cíl studie: **Popis a zhodnocení vlastního protokolu konzervativních, fertilitu zachovávajících operací v léčbě časného stadia karcinomu děložního hrdla a jeho srovnání s nejčastěji používanými protokoly a jejich reprodukčními a onkologickými výsledky.**

Typ studie: **Prospektivní klinická studie.**

Název a sídlo pracoviště: **Gynekologicko-porodnická klinika, 2. LF UK a FN v Motole, Praha.**

Soubor a metodika: **Do prospektivní studie bylo zařazeno 24 žen (6 stadia T1A2 a 18 stadia T1B1) splňující vstupní kritéria (největší rozměr nádoru do 20 mm, infiltrace do méně než poloviny stromatu hrdla, normální hladina SCC, informovaný souhlas). Minimální doba sledování od operace byla 24 měsíců. Ve studii byl popsán terapeutický protokol, vyhodnoceny onkologické a reprodukční výsledky léčby a provedena komparace s ostatními fertilitu zachovávajícími chirurgickými postupy.**

Výsledky: **U čtyř žen (16,7 %) bylo pomocí peroperačního histopatologického vyšetření (frozen section - FS) detekováno metastatické postižení sentinelových lymfatických uzlin. V jednom případě (4,1 %) byla po 14 měsících od operace nalezena recidiva v oblasti děložního istmu, ale pacientka podstoupila**

chemoradioterapii a po 36 měsících je v kompletní remisi. V souboru 15 žen plánujících graviditu jich dosud otěhotnělo celkem 11. Z osmi porodů (jeden v 24. týdnu – 650 g, jeden v 34. týdnu – 2240 g, jeden v 36. týdnu – 2700 g, pět mezi 37. a 39. týdnem) se narodilo pouze jedno dítě v pásmu extrémní prematurity.

Závěr: **Detekce sentinelových uzlin s pomocí peroperačního histopatologického vyšetření a jejich následného sériového zpracování spolu s dvojkrokovým režimem léčby zvyšuje efektivitu fertilitu zachovávajících operací. Méně radikální chirurgický výkon na děložním hrdle: rekonizace (u stadia IA2) nebo simplexní trachelektomie (u časného stadia TIB1) s negativním výsledkem laparoskopické lymfadenektomie má srovnatelné onkologické výsledky jako radikální trachelektomie nebo abdominální radikální trachelektomie. Úspěšnost otěhotnění a průběh těhotenství, zejména s ohledem na porod donošeného plodu, je po léčbě časného stadia karcinomu děložního hrdla pomocí našeho postupu nejlepší, přičemž velmi dobré výsledky jsou publikovány i u žen po radikálních trachelektomiích. Po abdominálních radikálních trachelektomiích jsou dosud publikované výsledky neuspokojivé.**

Klíčová slova: **cervikální karcinom, sentinelové uzliny, laparoskopická lymfadenektomie, trachelektomie, těhotenství**

ÚVOD

Karcinom děložního hrdla má v České republice dlouhodobě vysokou incidenci, která se v posledních 5 letech pohybuje mezi 19 až 21/100 000 žen. V absolutních číslech je nově diagnostikováno 1000 až 1050 těchto karcinomů ročně. Ve věku do 35 let jsou poměrně častým onemocněním a jen v letech 2000-2003 bylo u nás v této skupině diagnostikováno průměrně 137 nových případů ročně [14]. V jedné třetině případů ve věku do 35 let se jedná o mikroinvazivní karcinom, většinou stadia IA1, kde je konizace děložního hrdla dostatečným výkonem. Ve dvou třetinách se vyskytuje invazivní karcinom, u něhož je standardním léčebným postupem radikální chirurgická léčba nebo radioterapie. Následkem takové terapie však mladé ženy ztrácejí možnost otěhotnění. Počet žen, které plánují i první těhotenství až po 30. roce se v současnosti neustále zvyšuje a problematika konzervativních, fertilitu zachovávajících chirurgických postupů léčby je proto stále více aktuální.

V současném světě se v případě fertilitu zachovávajících operací u žen s karcinomem děložního hrdla používá několik technicky odlišných přístupů. V naší práci předkládáme vlastní léčebný protokol, který srovnáváme s ostatními nejčastěji používanými postupy [2, 4, 5, 9, 16, 19, 23, 24, 25, 26].

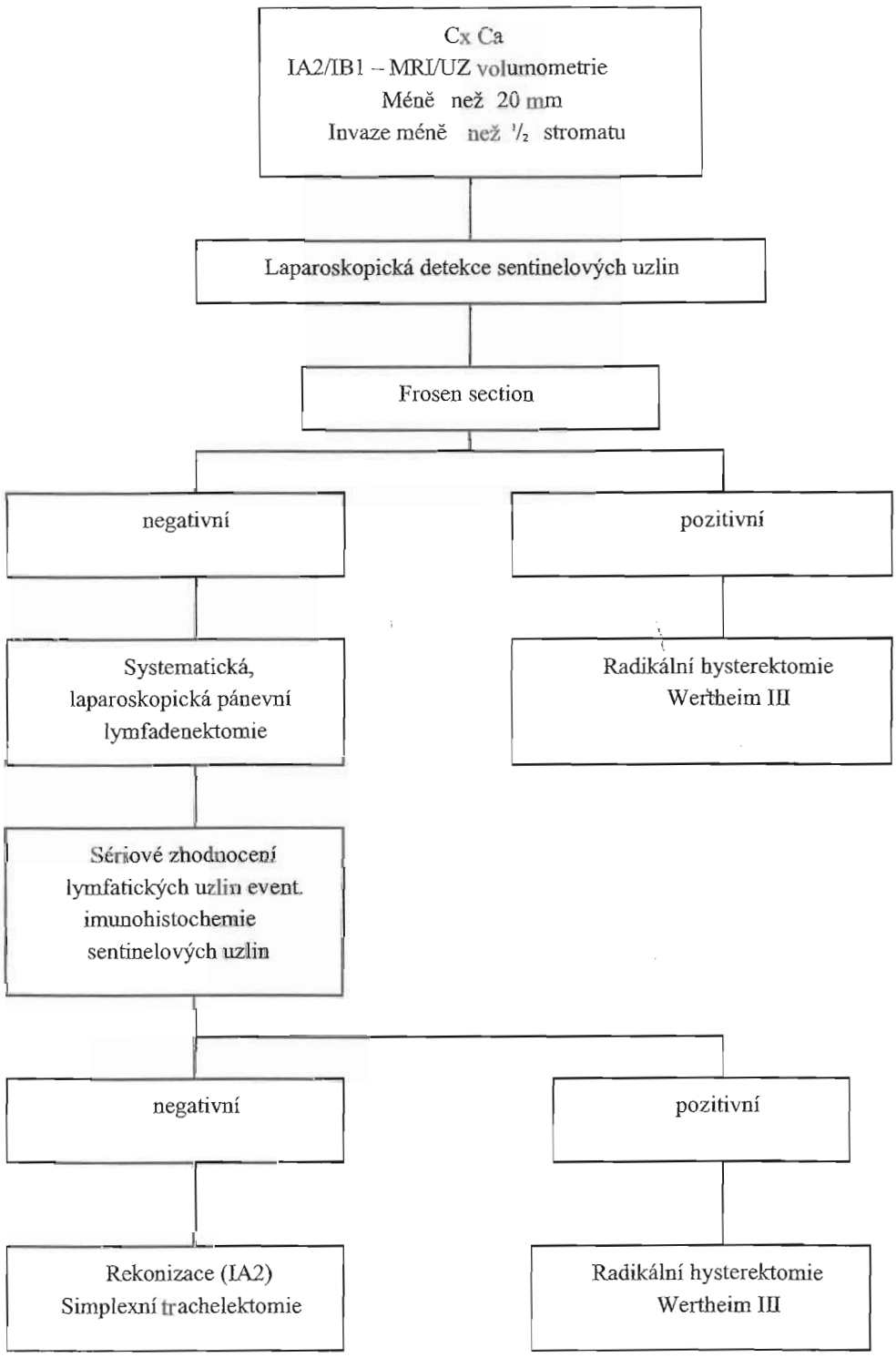
SOUBOR A METODIKA

Do prospektivní studie, která byla odsouhlasena etickou komisí a nemocniční vědeckou radou jako nový léčebný postup, bylo zařazeno 24 žen s karcinomem děložního hrdla (6 stadia T1A2 a 18 stadia T1B1) splňujících vstupní kritéria protokolu pro konzervativní, dělohu zachovávající operaci: největší rozměr nádoru do 20 mm, infiltrace do méně než poloviny stromatu hrdla měřeno ultrasonografickou volumometrií (UZ) a volumometrií pomocí magnetické rezonance (MR), normální hladina SCC, věk do 35 let s přáním těhotenství a informovaný souhlas. Všechny ženy byly poučeny, že se nejedná o standardní léčebný postup a musely souhlasit s konverzí v radikální operaci v případě zjištění pozitivity sentinelových uzlin. Všechny pacientky byly rovněž poučeny o vysoce rizikovém následném těhotenství. Hodnocení souboru bylo provedeno v lednu 2006 a doba sledování byla minimálně 24 měsíců od výkonu. K detekci sentinelových uzlin byla použita patentová modř v množství 2 ml, ředěná v 2 ml fyziologického roztoku (BLEU PATENTÉ V 2.5%, Guerbet, Francie) nebo kombinace radiokoloidu ^{99m}Tc v dávce 20 MBq (SENTISCINT, Mediradiopharma LTD, Fodor Joszef NCPH, Maďarsko) a patentové modři. Technika aplikace, časování a peroperační histopatologické zpracování sentinelových i ostatních uzlin byla popsána v naší předchozí publikaci [20].

První fáze operace spočívá v laparoskopické identifikaci sentinelových uzlin a jejich exstirpaci. Uzliny jsou peroperačně vyhodnoceny technikou mrazeného řezu. V případě pozitivního nálezu je laparoskopie konvertována v abdominální radikální hysterektomii s dolní paraaortální lymfadenektomií. V případě negativních sentinelových uzlin je dokončena laparoskopická pánevní lymfadenektomie, a pokud jsou detekovatelné i modré lymfatické kanály či uzliny v mediální části parametria, provádí se jejich exstirpace. Druhá fáze operace se provádí za týden po laparoskopii, kdy známe výsledek definitivní histologie z provedené lymfadenektomie. V případě negativity uzlin provádíme ve stadiu IA2 rekonizaci jehlou a ve stadiu IB1 simplexní trachelektomii (obr. 1). Onkologické a reprodukční výsledky vlastního souboru jsme porovnali s nejčastěji publikovanými fertilitu zachovávajícími postupy.

VÝSLEDKY

Kritéria zařazení do studie splnilo 24 žen. Průměrný věk souboru byl 28,1 let (25-35). Celkem 14 žen nero-



Obr. 1. Postup při operaci

dilo, 9 bylo primipar a jedna tercipara. Nejkratší doba follow up byla 24 měsíců a nejdelší 84 měsíců (průměr 54 měsíců) od operace. V tabulce 1 je charakteristika souboru. V první laparoskopické fázi jsme u všech žen detekovali sentinelovou lymfatickou uzlinu (DR 100 %), oboustranně v 20 případech (SSDR 91,7 %). U čtyř žen (16,7 %) jsme v peroperační histologii mraženým řezem detekovali metastázu v sentinelové uzlině a laparoskopie byla konvertována na laparotomickou radikální hysterektomii s dolní paraaortální lymfadenektomií. Nezaznamenali jsme případ falešně negativní sentinelové uzliny. Při laparoskopické lymfadenektomii bylo odstraněno průměrně 28,1 uzliny (14-36). V průběhu výkonu jsme zaznamenali dvě závažnější komplikace. V prvním případě byla poraněna zevní ilická véna, v druhém případě byla při identi-

fikaci lymfatických cév v mediální části laterálního parametria poškozena uterinní arterie. Obě komplikace byly vyřešeny laparoskopicky. Druhou fázi jsme provedli po sedmi dnech se znalostí výsledku definitivní histologie z kompletní lymfadenektomie. U šesti žen jsme provedli rekonizaci a ve 14 případech simplexní vaginální trachelektomii. V této fázi operace jsme nezaznamenali komplikaci.

Onkologické výsledky. U jedné ženy jsme za 14 měsíců detekovali recidivu v istmické části dělohy, poté podstoupila chemoradioterapii a po 36 měsících je v kompletní remisi. V onkologické cytologii jsme v jednom případě v průběhu follow up zjistili HG SIL a HPV HR pozitivitu. Tato pacientka preferovala provedení hysterektomie a histologické vyšetření prokázalo CIN II.

Výsledky následných těhotenství. Fertilita byla zachována v 18 případech. Z celkově 15 žen plánujících graviditu otěhotnělo jedenáct. Tři pomocí metod asistované reprodukce (2krát IUI, jednou IVF). Evidujeme celkem 15 těhotenství, výsledky shrnuje tabulka 2. Všechny narozené děti jsou zdravé, včetně toho s extrémní prematuritou. Ve dvou případech došlo k potratu v druhém trimestru. V prvním případě se v prvním trimestru zdařila redukce z trojčat na jednočetné těhotenství, ale týden po amniocentéze v 16. týdnu z věkové indikace došlo k septickému potratu. V druhém případě nastal spontánní odtok plodové vody ve 22. týdnu gravidity.

Tab. 1. Soubor pacientek

Charakteristika souboru N = 24	
T - IA2	6
T - IB1	18
Grade I	10
Grade II	9
Grade III	5
Histologický typ	
Spinocelulární	20
Adenokarcinom	3
Adenoskvamózní	1
LVSI pozitivní	10
LVSI negativní	14
Předchozí dg. výkon	
Konizace, LETZ	15
Biopsie (punch, excize)	9

LVSI – lymfovaskulární invaze

Tab.2. Výsledky následných těhotenství

Těhotenství	
Zachována fertilita	18 žen
Přání těhotenství	15 žen
Těhotné	11 žen
8 dětí	1 x 650g (24 týden)
(1x IUI, 1x IVF)	1 x 2240g (34 týden)
	1 x 2700g (36 týden)
	5x 37-39 týden
Interrupce	1
Abdominální GEU	1
Spontánní potrat I. trimestr	2
Spontánní potrat II. trimestr	2
Současně probíhající těhotenství (12. týden)	1

DISKUSE

V současné době narůstá počet žen, které jsou ve fertilním věku, plánují těhotenství a je u nich diagnostikován invazivní karcinom děložního hrdla. V literatuře je popsáno několik konzervativních fertilitu zachovávajících postupů, každý s odlišným technickým přístupem a rozdílnou radikalitou [2, 5, 9, 16, 19, 23, 24, 25, 26]. Každý z těchto postupů musí vykazovat minimální onkologické riziko (blížící se dnešnímu standardu, tedy radikální hysterektomii) a současně musí být tyto postupy dostatečně konzervativní, aby v přijatelném procentu zachovaly fertilitu. Z těchto dvou pohledů je nutno tyto fertilitu zachovávající postupy hodnotit [10, 13].

Prvním, v současné době „standardním" postupem je laparoskopická lymfadenektomie s radikální trachelektomií. Tento postup poprvé publikoval v roce 1994 Dargent [8]. V České republice byla tato operace ve spolupráci s prof. Dargentem poprvé provedena na pracovišti autorů v Motole v roce 1997. V české literatuře publikoval zkušenosti s tímto výkonem Bartoš v roce 2000 [2]. V roce 2001 jsme v komentáři [21] diskutovali o článku Dargenta a popsali vlastní modifikovaný postup. Zkušenosti s radikální trachelektomií z největších center shrnula Plante [16]. Do současnosti byly publikovány údaje o více než 300 těchto operací [7, 12, 16, 23, 24]. U nádorů do 2 cm v největším rozměru je procento recidiv 4,1 % (mortalita 2,6 %), ze souborů byly vyřazeny ženy s pozitivním nálezem v lymfatických uzlinách. U nádorů nad 2 cm (42 žen a 8 recidiv) se procento recidiv blíží téměř 20 %. Tyto výsledky jsou identické se standardními postupy, tedy radikální hysterektomií. Plante [17] ve své publikaci shrnula výsledky následných těhotenství po radikálních trachelektomiích. V šesti centerech otěhotnělo z 310 žen 98 (32 %), u nichž bylo zaznamenáno celkem 149 gravidit a 101 z nich skončilo porodem (68 %). Výsledky jednotlivých center se výrazně liší [3, 12, 15, 17, 22, 24].

Druhou, „starší alternativou" je radikální abdominální trachelektomie, kterou popsal a provedl v roce 1932 rumunský chirurg Aburel. Po dlouhé době zapomnění se k tomuto postupu vrátil a v roce 1997 zkušenosti publikoval Smith [25] a v naší odborné literatuře publikoval vlastní zkušenosti a literární přehled Cibula v roce 2005 [5]. Aktuální publikace Ungára z roku 2005 [26] shrnuje zkušenosti a výsledky u 33 žen (na publikaci se podílelo budapešťské centrum, dvě londýnská centra a jedno v New Yorku). Ze 30 žen, u nichž byl výkon dokončen, se nevyskytla žádná recidiva (follow up 14 až 75 měsíců), ale pouze 5 žen otěhotnělo a pouze dvě ženy poro-

dily. Tento postup kritizoval v roce 2002 Dargent [10]. Naše názory již z roku 2001 [21] se s tímto názorem shodovaly. Malý počet úspěšných těhotenství po abdominálních radikálních trachelektomiích dává kritikům za pravdu. Onkologické výsledky tohoto postupu jsou sice velmi dobré [25, 26], ale i u tohoto postupu byla popsána recidiva karcinomu [1].

V našem souboru laparoskopických lymfadenektomií s detekcí sentinelových uzlin, jejich ultramikrostagingem a ve druhé fázi provedené rekonizaci či simplexní trachelektomii nezemřela žádná žena. Jedna žena s centrální recidivou je tři roky po chemoradioterapii v kompletní remisi. Hlavním důvodem provádění konzervativní operace je možnost úspěšného těhotenství po zákroku. Z tohoto pohledu je zatím nejúspěšnější náš postup. Výsledky počtu těhotenství (73 %) u žen, které se snažily otěhotnět a 8 úspěšných porodů pouze s jednou extrémní prematuritou u 7 žen (47 %) jsou spolu s výsledky skupiny Plante-Roy [17] dosud nejlepší z center, která publikovala své výsledky.

Ostatní modidifikace těchto postupů, například laparoskopická lymfadenektomie s laparoskopicky provedenou tracheloplastikou a využití neoadjuvantní chemoterapie, jsou dosud pouze kazuistické a zatím nelze hodnotit onkologické výsledky a počty těhotenství.

Kritéria pro provádění konzervativních fertilitu zachovávajících operací se v průběhu prvních deseti let měnila. V současné době většina pracovišť souhlasí s operací u nádoru o maximálním rozměru do 20 mm. Hloubka invaze se v jednotlivých centrech liší (10-15 mm), přičemž některá ji vůbec nespecifikují. V našem protokolu jsme si stanovili, že nádor nesmí infiltrovat více než polovinu stromatu hrdla (považujeme za nejvýznamnější kritérium) a nemá v největším rozměru přesáhnout 20 mm. Dalšími kritérii jsou normální hodnota SCC a fertilní věk pacientky, která si přeje těhotenství. Kritérium poloviny stromatu jsme si stanovili ze dvou důvodů. Prvním byla retrospektivní analýza vlastního souboru 120 radikálních operací dle Wertheima–Meigse pro invazivní karcinomy, u nichž nebyla infiltrace větší než polovina stromatu. Počet pozitivních uzlin dosahoval 7,5 % a v mimimálně tříletém follow up bylo u 111 pacientek s negativními uzlinami 6 recidiv (5,4 %). Jedná se o prognosticky příznivou skupinu, kde je riziko přání fertility akceptovatelné. Druhý důvod je onkologicko-porodnický. Incize nad nádorem by měla být vedena minimálně 5 mm ve zdravé tkáni a pro úspěšné těhotenství je třeba zachovat minimálně 10 mm funkčního stromatu hrdla. Amputace větší části hrdla výrazně snižuje fertilitu a v případě těhotenství je rizikem pro extrémní prematuritu. Základním krokem je co nejpřesnější volumometrie nádoru a hrdla pomocí MR a UZ [6, 16, 21, 28]. Diskuse se vedou o významu angioinvaze [13, 16, 22]. Angioinvazi nepovažujeme za kontraindikaci konzervativní operace, i když je jistě rizikovým faktorem.

Rozsah radikality konzervativních operací je často diskutován. Všechny postupy provádějí systematickou pánevní lymfadenektomii. Lze souhlasit s Dargentem, že pro budoucí fertilitu je vhodnější laparoskopický přístup než laparotomický [10]. Zásadní rozdíl je v rozsahu resekce parametrií. Z onkologického pohledu je nejradikálnějším postupem abdominální radikální trachelektomie. V popisu této operace [25] je resekce mediální části laterálních parametrií při abdominální trachelektomii prováděna identicky jako u klasického postupu při radikální hysterektomii s ligaturou uterinní arterie a vény a s uvolněním ureteru [25]. To umožňuje bezpečnou resekci mediální části laterálních parametrií a individualizování resekce předních i zadních parametrií. Při vaginální radikální trachelektomii je v laparoskopické části možno identifikovat a exstirpovat lymfatika v mediální části laterálního parametria, přičemž není porušena uterinní arterie [16, 18]. Při vaginální části operace jsou resekována parametria se zachováním uterinní arterie, což limituje radikalitu resekce parametrií. Dlouhodobé výsledky však ukazují, že limitovaná resekce mediální části laterálních parametrií nijak nezhoršuje onkologické výsledky léčby časných stadií (IA2, IB1 do 20 mm v největším rozměru) s negativitou pánevních uzlin [16]. Studie detekce sentinelových uzlin pomocí patentové modři a radiokoloidu technecia nám přinesly nové poznatky o lymfatické drenáži u časných stadií cervikálních karcinomů. Tyto výsledky vysvětlují i malé procento recidiv při limitované resekci parametrií u vaginální trachelektomie v případě negativních sentinelových lymfatických uzlin [11, 18, 20, 27]. Zásadní otázka, zpochybňující u konzervativních operací nutnost resekce parametrií, zní: Kolik žen, u nichž byly negativní pánevní uzliny, včetně sentinelových, mělo v histopatologickém resekátu parametrií s trachelektomií pozitivní nález? Ve dvou největších souborech (Dargent, Plante – osobní sdělení) žádná žena s negativními pánevními či sentinelovými uzlinami neměla v resekátu parametrií pozitivní histologický nález u nádorů do rozměru 20 mm. Náš přístup je z pohledu radikality resekce parametrií nejméně radikální. V případě negativity sentinelových uzlin v ultramikrostagingu a negativity ostatních pánevních uzlin u nádorů s infiltrací do poloviny stromatu je riziko detekce metastáz v mediální části laterálních parametrií pouze kazuistické a význam resekce parametrií je u konzervativních operací v takto definované skupině zpochybnitelný a kontroverzní [19].

ZÁVĚR

Ve stadiu karcinomu děložního hrdla IA2 považujeme hlubokou rekonizaci a ve stadiu IB1 simplexní trachelektomii za spolehlivý a bezpečný výkon u žen s negativitou pánevních lymfatických uzlin a negativním histopatologickým ultramikrostagingem sentinelových uzlin. Postup ve dvou krocích (laparoskopie s identifikací sentinelových uzlin a vaginální operace) zvyšuje bezpečnost konzervativních a fertilitu zachovávajících léčebných postupů. V našem souboru jsme dosáhli velmi dobrých výsledků následných těhotenství a srovnatelné dlouhodobé onkologické výsledky s ostatními postupy. Laparo-

skopický postup by měl být metodou volby, protože počty úspěšných těhotenství po abdominálních radikálních trachelektomiích nejsou uspokojivé.

Práce vznikla s podporou IGA MZ ČR NR 8434-4 a VZ - MZO–00064203/6709.

LITERATURA

1. **Bader, A.A., Tamussino, K.F., Moinfar, F., et al.** Isolated recurrence at the residual uterine cervix after abdominal radical trachelectomy for early cervical cancer. Gynecol. Oncol., 2005, 99, p. 785-787.
2. **Bartoš, P., Zelenka,, Z., Popelka, P.** Radikální trachelektomie v léčbě časného cervikálního karcinomu. Čes. Gynek., 2000, 65, s. 437-442.
3. **Bernardini, M., Barrett, J., Seaward, G., Covens, A.** Pregnancy outcomes in patients after radical trachelectomy. Am. J. Obstet. Gynecol., 2003, 189, p. 1378-1382.
4. **Burnett, A.F., Roman, L.D., O@Meara, A.T., et al.** Radical vaginal trachelectomy and pelvic lymphadenectomy for preservation of fertility in early cervical carcinoma. Gynecol. Oncol., 2003, 88, p. 419- 423.
5. **Cibula, D., Ungár, L., Svárovský J., et al.** Abdominální radikální trachelektomie – technika a zkušenosti. Čes. Gynek., 2005, 70, s. 117-122.
6. **Chou, Ch.Y., Hsu, K.F., Wang, S.T., et al.** Accuracy of three-dimensional ultrasonography in volume estimation of cervical carcinoma. Gynecol. Oncol., 1997, 66, p. 89-93.
7. **Covens, A., Shaw, P., De Petrillo, J., et al.** Is radical trachelectomy a safe alternative to radical hysterectomy for patient with stage IA-B carcinoma of the cervix? Cancer, 1999, 86, p. 2273-2279.
8. **Dargent, D., Brun, J.L., Roy, M., Remy. I.** Pregnancies following radical trachelectomy for invasive cervical cancer. Gynecol. Oncol., 1994, 52, p. 105 (Abstract).
9. **Dargent, D., Martin, X., Sacchetoni, A., et al.** Laparoscopic vaginal radical trachelectomy: a treatment to preserve the fertility of cervical carcinoma patients. Cancer, 2000, 88, p. 1877-1882.
10. **Dargent D.** Radical abdominal trachelectomy and pelvic lymphadenectomy with uterine conservation and subsequent pregnancy in the treatment of early cervical carcer (letter). Am. J. Obstet. Gynecol., 2002, 187, p. 1728-1729.
11. **Levenback, C., Coleman, R.L., Burke, T.W., et al.** Lymphatic mapping and sentinel node identification in patients with cervix cancer undergoing radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy. J. Clin. Oncol., 2002, 20, p. 688-693.
12. **Mathevet, P., de Kaszon, E.L., Dargent, D.** Fertility preservation in early cervical cancer. Gynecol. Obstet. Fertil., 2003, 31, p. 706-712.
13. **Morice, P., Dargent, D., Haie-Meder, C., et al.** First case of a centropelvic recurrence after radical trachelectomy: literature review and implications for the preoperative selection of patients. Gynecol. Oncol., 2004, 92 , p. 1002-1005.
14. Novotvary 2003, ÚZIS, NOR, Praha, 2006.
15. **Petignat, P., Stan, C., Megevand, E., et al.** Pregnancy after trachelectomy: a high-risk condition of preterm delivery. Report of a case and review of the literature. Gynecol. Oncol., 2004, 94, p. 575-577.
16. **Plante, M., Renaud, M.C., Francois, H., et al.** Vaginal radical trachelectomy: an oncologically safe fertility – preserving surgery. An update series of 72 cases and review on the literature. Gynecol. Oncol., 2004, 94, p. 614-623.
17. **Plante, M., Renaud, M.C., Hoskins, I.A., et al.** Vaginal radical trachelectomy: A valuable fertility-preserving option in the management of early – stage cervical cancer. A series of 50 pregnancies and review of the literature. Gynecol. Oncol., 2005, 98, p. 3-10.
18. **Plante, M., Renaud, M.C., Tetu, B., et al.** Laparoscopic sentinel node mapping in early-stage cervical cancer. Gynecol. Oncol., 2003, 91, p. 494-503.
19. **Rob, L., Charvát, M., Robová, H., et. al.** Sentinel lymph node identification (SLNI) in the management of conservative surgery in early cervical cancer: Is it acceptable? Gynecol. Oncol., 2005, 99, p.147-148.
20. **Rob, L., Strnad, P., Robová, H., et al.** Study of lymphatic mapping and sentinel node identification in early stage cervical cancer. Gynecol. Oncol., 2005, 98, p. 281-288.
21. **Rob, L.** Komentář: Dargent, D. Radikální trachelektomie jako metoda zachovávající fertilitu u časných stadií zhoubných nádorů děložního hrdla. Gynek. po promoci, 2001, 1, s. 28-35.
22. **Roman, L.D.** Pregnancy after radical vaginal trachelectomy: Maybe not such a risky undertaking after all. Gynecol. Oncol., 2005, 98, p. 1-2.
23. **Schlaerth, J.B., Spirtos, N.M., Schlaerth, A.C.** Radical trachelectomy and pelvic lymphadenectomy with uterine preservation in the treatment of cervical cancer. Am. J. Obstet. Gynecol., 2003, 188, p. 29-34.
24. **Shepherd, J.H., Mould, T., Oram, D.H.** Radical trachelectomy in early stage carcinoma of the cervix: outcome as judged by recurrence and fertility rates. Br. J. Obstet. Gynecol., 2001, 108, p. 882-885.
25. **Smith, J.R., Boyle, D.C.M., Corless, D.J., et al.** Abdominal trachelectomy. A new surgical technique for the conservative management of cervical carcinoma. Br. J. Obstet. Gynecol., 1997, 104, p. 1196-1200.
26. **Ungár, L., Pálfalvi, L., Hogg, R., et al.** Abdominal radical trachelectomy: a fertility – preserving option for women with early cervical cancer. Br. J. Obstet. Gynecol., 2005, 112, p. 366-369.
27. **van Dam, P.A., Hauspy, J., Vanderheyden, T., 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, p. 182-186.
28. **Wagenaar, H.C., Trimbos, J.B., Postema, S., et al.** Tumor diameter and volume assessed by magnetic resonance imaging in the prediction of the outcome for invasive cervical cancer. Gynecol. Oncol., 2003, 82, p. 474-482.

Doc. MUDr. Lukáš Rob, CSc.
Gynekologicko-porodnická klinika
2. LF UK a FN Motol
V Úvalu 84
150 06 Praha 5

Čes. Gynek.
69, 2004, č. 5
s. 376-383

Guideline gynekologických zhoubných nádorů 2004 – Primární komplexní léčba operabilních stadií zhoubných nádorů děložního hrdla

Guideline for Gynecological Malignant Tumors – Primary Complex Therapy in Operable Stages of Malignant Tumors of Uterus Cervix

Rob L.[1], Svoboda B.[2], Robová H.[1], Stankušová H.[3], Cwiertka K.[4], Neumannová R.[5], Petera J.[6], Koliba P.[7], Kudela M.[8]

[1]Gynekologicko-porodnická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha, přednosta doc. MUDr. L. Rob, CSc.
[2]Gynekologicko-porodnická klinika 3. LF UK a FN KV, Praha, přednosta doc. MUDr. B. Svoboda, CSc.
[3]Radioterapeutické oddělení FN Motol, Praha, přednosta prim. MUDr. J. Prausová
[4]Onkologická klinika LF UP a FN, Olomouc, přednosta prof. MUDr. J. Macháček, CSc.
[5]Radioterapeutické odd. FN, Brno, prim. MUDr. R. Neumannová
[6]Onkologická klinika FN a LF UK, Hradec Králové, přednosta doc. MUDr. J. Petera, PhD.
[7]Gynekologicko-porodnická klinika FN, Ostrava, přednosta MUDr. P. Koliba, CSc.
[8]Gynekologicko-porodnická klinika LF UP a FN, Olomouc, přednosta prof. MUDr. M. Kudela, CSc.

Structured Abstract

Objective: **Elaboration of guideline for primary treatment of operable cervical cancer.**

Design: **Review, consensus between proposers and opponents.**

Setting: **Department of Obstetrics and Gynecology, Charles University, Prague, 2nd Medical Faculty and Faculty Hospital Motol.**

Method: **A retrospective review of published data, analysis of Czech statistics and consensus between proposers and opponents.**

Results: **Team work is essential in the diagnostic and therapeutic procedure. For the preoperative diagnostic management it is possible to perform magnetic resonance volumometry. For the treatment of early stage cervical cancer it is possible to perform sentinel lymph node mapping (SLNM) by patent blau and ^{99m}Tc together with frozen section. SLNM does not substitute systematic pelvic lymphadenectomy. For the treatment of IB2 stage cervical cancer, an alternative for primary surgery or chemoradiotherapy is neoadjuvant chemotherapy, followed by radical surgery. In other topics only minor changes were made from the 1998 guideline.**

Conclusion: **The guideline for cervical cancer treatment should represent directions for clinicians and others, who participate in the process of the treatment of cervical cancer. The guidelines include all parts of the process (from diagnosis to follow up). It originated from the consensus between proposers and opponents: we voted about all parts of guideline.**

Key words: **cervical cancer, guideline, diagnosis, treatment, follow up**

Strukturovaný souhrn

Cíl studie: **Vypracování doporučeného postupu (guideline) pro primární komplexní léčbu operabilních stadií zhoubných nádorů děložního hrdla.**

Typ studie: **Souhrnný přehled literatury, konsenzus předkladatel versus oponenti.**

Název a sídlo pracoviště: **Gynekologicko-porodnická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha.**

Metodika: **Proveden literární rozbor, analýza statistických údajů z České republiky a předkladateli vypracován návrh, který byl oponován skupinou expertů. Předkladatelé vycházeli ze standardu léčby z roku 1998. Výsledná předloha je konsenzus vzniklý hlasováním expertní skupiny.**

Výsledky: **V diagnostickém i terapeutickém algoritmu je zdůrazněn význam týmové práce, nově definováno využití magnetické rezonance. Rozsah chirurgické intervence vychází z terapeutické rozvahy. V terapeutickém algoritmu časných stadií lze provést identifikaci sentinelové uzliny (SLNM) Patentovou modří a radiokoloidem technecia s peroperačním histopatologickým vyšetřením, pozitivní výsledek pomáhá modifikovat terapeutický postup. Detekce sentinelové uzliny nenahrazuje provedení systematické pánevní lymfadenektomie. V léčbě stadia IB2 objemných nádorů je vedle primární operace nebo chemoradioterapie alternativa neoadjuvantní chemoterapie s následnou radikální chirurgickou léčbou. Vytvořena kritéria adekvátnosti chirurgické léčby ve vztahu k prognostickým faktorům. V ostatních bodech jsou pouze malé úpravy ve srovnání standardu z roku 1998.**

Závěr: **Guideline pro léčbu karcinomů děložního hrdla by měl být vodítkem základní péče pro kliniky a ostatní subjekty, které vstupují do procesu zdravotní péče o karcinomy děložního hrdla.**

Jedná se o konsenzus mezi předkladateli a oponenty. O každém bodu tohoto guidelinu bylo hlasováno. Guideline se zabývá jednotlivými kroky od diagnostiky po dispenzarizaci.

Klíčová slova: **karcinom, děložní hrdlo, guideline, diagnostika, léčba, dispenzarizace**

ÚVOD

V listopadu 2003 a v lednu 2004 se z podnětu Onkogynekologické sekce ČGPS konala konsenzus konference řešící aktualizaci standardů pro primární léčbu gynekologických zhoubných nádorů. U karcinomu děložního hrdla šlo o aktualizaci standardu z roku 1998. Jednání probíhala formou oponentury předloženého návrhu a každý sporný bod byl řešen diskusí expertů s připomínkami pléna a následným hlasováním panelu expertů, po kterém bylo dosaženo konsenzu.

Standard popisuje diagnosticko-terapeutické postupy a komplexní primární léčbu operabilních stadií zhoubných nádorů děložního hrdla. Za operabilní stadia považujeme stadia I až IIa včetně. Incidence onemocnění v ČR v roce 2000 byla 19,8 na 100 000, tj. 1045 žen. Mortalita, tj. úmrtnost, byla 6,9, tj. 363 žen. Tato incidence je jednou z nejvyšších v Evropě. Průměr incidence zemí EU byl v roce 2000 pouze 9,6 na 100 000 žen. Přes mírný pokles incidence v ČR v posledních letech patříme v EU k 5 zemím s nejvyšší incidencí. Tato vysoká četnost výskytu tohoto onemocnění je důsledkem neexistujícího screeningového programu v naší republice. Radikální operační léčbu jako hlavní modalitu komplexní terapie má v ČR 40 až 60 % žen, v závislosti na jednotlivých regionech. Podle statistik ÚZIS je v I. až IIa. stadiu zachyceno pouze necelých 50 % onemocnění. Ve srovnání s vyspělými zeměmi tak máme výrazně vyšší počet pokročilých onemocnění (stadium IIb až IVa). Země jako Finsko, SRN, Holandsko, Belgie, Velká Británie mají pouze 20 až 25 % pokročilých onemocnění. V současné době má nejlépe fungující screeningový program Lucembursko a Finsko. Zde se podařilo snížit incidenci pod 5 na 100 000 žen. Proces – diagnosticko-terapeutický algoritmus je podle uvedeného grafického schématu následně komentován v jednotlivých krocích. Z nových věcí je v guideline zvýrazněn význam MR v diagnostice, nově je uvedena detekce sentinelových uzlin. Radikální vaginální hysterektomie s laparoskopicky provedenou lymfadenektomií je nyní vyhrazena pouze pro stadia IA2 a malé IB1 nádory do 20 mm v největším rozměru. U stadia IB2 je do standardních postupů zařazena neoadjuvantní chemoterapie s následnou radikální operační léčbou.

Seznam účastníků panelu Guidelines pro léčbu karcinomů děložního hrdla 2004:

doc. MUDr. Lukáš Rob, CSc. – předkladatel,

doc. MUDr. Bohuslav Svoboda, CSc. – Onkogynekologická sekce ČGPS ČLS JEP,

as. MUDr. Helena Robová – Onkogynekologická sekce ČGPS ČLS JEP,

prof. MUDr. Milan Kudela, CSc. – Onkogynekologická sekce ČGPS ČLS JEP,

MUDr. Hana Stankušová, CSc. – SROBF ČLS JEP,

prim. MUDr. Renata Neumannová – SROBF ČLS JEP,

doc. MUDr. Jan Petera, PhD. – Onkologická společnost ČLS JEP,

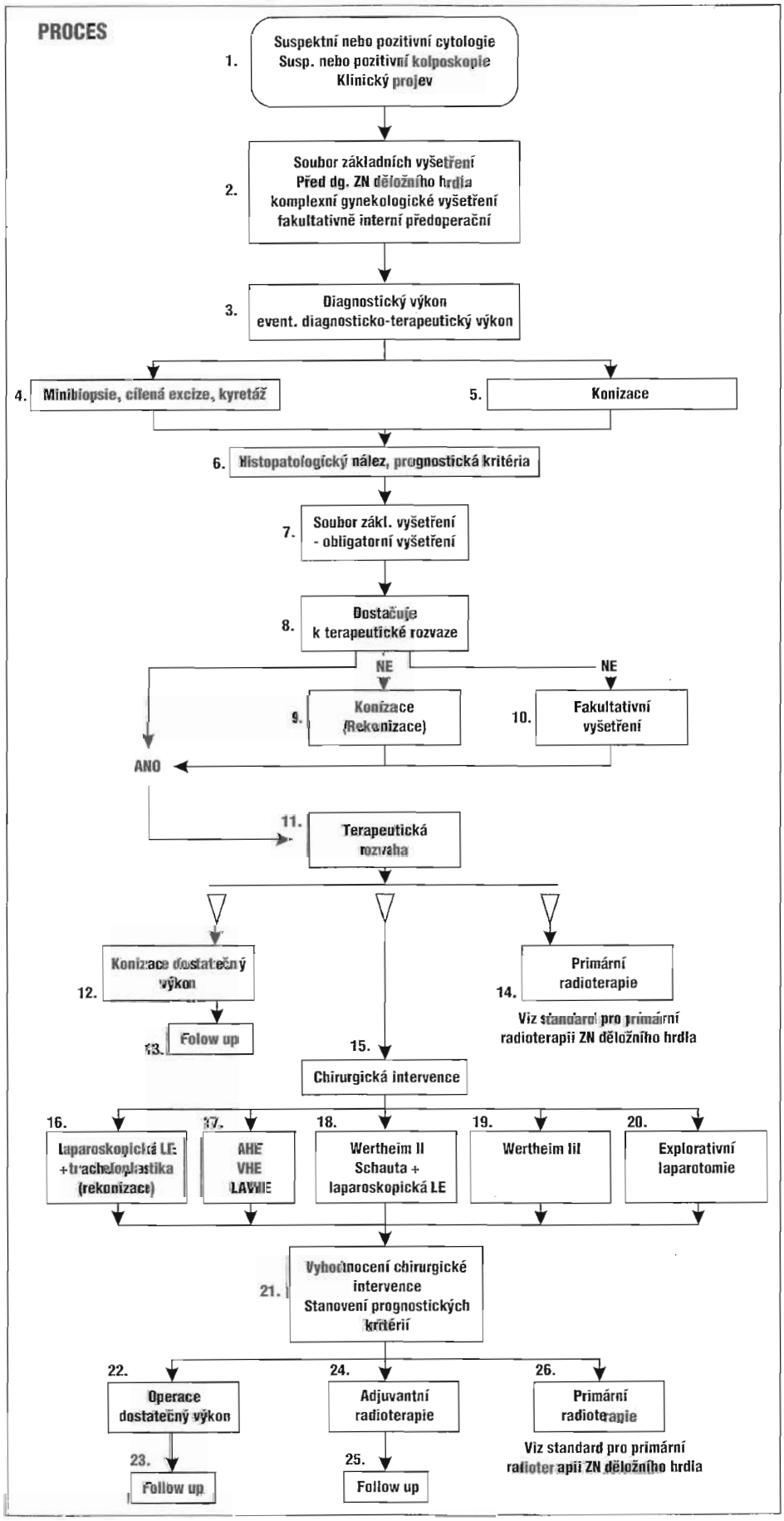
MUDr. Karol Cwiertka, CSc. – Onkologická společnost ČLS JEP.

PERSONÁLNÍ, KVALIFIKAČNÍ A TECHNICKÉ PŘEDPOKLADY PRO KOMPLEXNÍ DIAGNOSTIKU A LÉČBU GYNEKOLOGICKÝCH ZHOUBNÝCH NÁDORŮ (GZN)

Byla stanovena minimální kritéria pro personální a kvalifikační předpoklady jednotlivých pracovišť. Tato kritéria byla vytvořena pro onkogynekologická centra, kde jedno pracoviště provádí komplexní diagnostiku, chirurgickou léčbu a chemoterapii a ve spolupráci s radioterapeutickým oddělením (klinikou) zajišťuje komplexní péči. Podobně byla vytvořena kritéria pro pracoviště, kde se léčba provádí na samostatných odděleních gynekologie (diagnostika a chirurgická léčba) nebo radioterapie. Byl stanoven minimální počet radikálních chirurgických výkonů pro gynekologické pracoviště. Tato kritéria byla široce diskutována, dosažený konsenzus minimálního počtu operací pro onkogynekologická pracoviště je zcela kompatibilní s návrhy zemí EU na kvalitu péče a možnou kontrolu kvality. Za cíl považuje panel stav, kdy jednotlivá centra získají akreditace a vytvoří databázi, která umožní kontrolu kvality včetně akreditace ESGO – EBCOG. Standard, který by definoval personální a technické předpoklady pro radioterapii a klinickou onkologii zatím v ČR není. Neméně významné je definování minimálních požadavků

Tab. 1. Aktualizace standardu

Typ standardu	Standard léčebného plánu		
Dominantní obor	GYNEKOLOGIE RADIAČNÍ ONKOLOGIE	Kód	603 403
Další obory	KLINICKÁ ONKOLOGIE RADIODIAGNOSTIKA BIOCHEMIE PATOLOGICKÁ ANATOMIE	Kód	402 809 801 807
Součást tématu	Zhoubné nádory děložního hrdla	10. MKN	C 53
Skupina, o kterou se pečuje	Ženy s operabilními stadii ZN děložního hrdla		
Určeno pro	Gynekology, radiační onkology, radiodiagnostiky, klinické onkology, histopatology		
Personální a kvalifikační předpoklady pro komplexní diagnostiku a léčbu	**A. tým - onkogynekologické centrum** - gynekolog - nejvyšší specializace v oboru, minimálně 2 lékaři (1,0 úvazek) - lékař s nadstavbovou atestací z klinické onkologie minimálně 1 lékař (1,0 úvazek) - radiační onkolog (konziliář) - nejvyšší specializace v oboru - histopatolog (konziliář) - nejvyšší specializace v oboru - radiodiagnostik (konziliář) - nejvyšší specializace v oboru - minimální počet radikálních chirurgických výkonů pro gynekologickou malignitu - pracoviště operuje minimálně 100 ZN - minimálně 60 radikálních operací - minimálně 30 ZN děložního hrdla - minimálně 20 ZN děložního hrdla - minimálně 30 ZN ovarií - sekundární lékaři, instrumentářky, zdravotní sestry **B. tým - klinická a radiační onkologie** - minimálně 2 lékaři s nejvyšší specializací v oboru - ostatní personál odkaz na standard SROBF - počet nově nemocných - odkaz na standard SROBF		
Technické předpoklady	GYNEKOLOGIE - operační léčba - gynekologické pracoviště s odpovídajícím A. diagnostickým komplementem ultrazvuk s abdominální, vaginální sondou B. operačním zázemím pro onkogynekologickou operativu C. dosažitelnost peroperační biopsie (FS) D. odpovídající intenzivní pooperační péči RADIAČNÍ ONKOLOGIE - (splňující podmínky kurativní léčby kombinací teleterapie a brachyterapie na stejném pracovišti viz standard Společnosti radiační onkologie, biologie a fyziky – SROBF)		
Jiné předpoklady	Komplement - dostupnost hematologické a biochemické laboratoře 24 hod. denně - dostupnost standardních zobrazovacích metod (rtg, CT, NMR) 24 hod. denně - dostupnost histopatologické laboratoře s peroperační biopsií - dostupnost gynekologické, chirurgické, ARO a interní konziliární služby 24 hod. denně		
Místo použití	gynekologie, radiační onkologie, klinická onkologie, radiologie, patologie		



Graf 1. Diagnosticko-terapeutický algoritmus

na komplement, tj. dostupnost hematologické a biochemické laboratoře 24 hodin denně, dostupnost standardních zobrazovacích metod 24 hodin denně, dostupnost histopatologické laboratoře a peroperační biopsie, dostupnost konziliárních služeb. Takto definovaný komplement může řešit komplikace, které souvisejí s chirurgickou radikální léčbou a kurativní radioterapií. Současně minimalizuje jejich následky včetně forenzních.

1. Vstup

Pacientky se záchytem suspektní nebo pozitivní cytologie zachycené v rámci screeningu, preventivního vyšetření a/nebo pacientky s kolposkopicky abnormálním nálezem nebo klinicky suspektním karcinomem. Časná stadia cervikálního karcinomu probíhají asymptomaticky. Klinické projevy, tj. vodnatý výtok, krvácení, bolesti v oblasti malé pánve nebo symptomatologie metastáz, jsou většinou příznaky pozdní, tj. příznaky pokročilého onemocnění.

2. Soubor základních vyšetření – před diagnózou ZN děložního hrdla

Na základě cytologického nálezu případně kolposkopického nálezu je provedeno komplexní gynekologické vyšetření včetně vyšetření per rectum (popř. expertního kolposkopického vyšetření).

V případech, že diagnostický, event. diagnosticko-terapeutický výkon bude proveden v celkové anestezii, provádí se komplexní předoperační interní vyšetření (fakultativní). Soubor těchto základních vyšetření je v rozsahu, který má postačovat k provedení diagnostického či diagnosticko-terapeutického výkonu.

3. Diagnostický, event. diagnosticko-terapeutický výkon

Na základě kolposkopie, cytologie a komplexního gynekologického vyšetření včetně vyšetření per rectum je indikován podle klinické závažnosti diagnostický, event. diagnosticko-terapeutický výkon, viz body 4, 5, 6. Rozhodnutí o rozsahu výkonu je podle klinického a kolposkopického vyšetření.

4. Minibiopsie, cílená excize event. kyretáž hrdla

Minibiopsie (punch biopsie) – diagnostický výkon, který provádíme u klinicky evidentního invazivního karcinomu k histologické verifikaci pozitivních prebioptických nálezů (kolposkopie, onkologická cytologie).

Excize – cílená excize – diagnostický výkon, který provádíme u klinicky suspektního invazivního karcinomu k histologické verifikaci pozitivních prebioptických nálezů (kolposkopie, onkologická cytologie).

Kyretáž hrdla – diagnostický výkon, který provádíme u klinicky vysoce suspektního endocervikálního lokalizovaného karcinomu k histologické verifikaci pozitivních prebioptických nálezů (kolposkopie, onkologická cytologie).

5. Konizace

Diagnostický, event. diagnosticko-terapeutický výkon, který indikujeme v případě, že na základě kolposkopie a cytologie je vysloveno podezření na subklinický – mikroinvazivní karcinom (stadium Ia1, Ia2). Pro exaktní histopatologickou diagnostiku těchto mikroskopicky detekovatelných stadií je konizace minimálním výkonem. V některých případech je nejenom diagnostickým výkonem, ale může být i výkonem terapeutickým. Konizace na klinicky jasný invazivní karcinom je chybou.

6. Histopatologický nález, prognostická kritéria

Histopatologický nález má obsahovat:
- histologický typ nádoru,
- stupeň diferenciace nádoru (grade),
- hloubku invaze a přítomnost angioinvaze,
- u stadia Ia1 a Ia2 rozměry léze,
- u konizátu má histopatologický nález obsahovat popis okrajů preparátu jak laterálního, tak proximálního v kanálu děložního hrdla (dosahuje, nedosahuje okraje).

7. Soubor základních vyšetření – obligatorní vyšetření

měl by být nepodkročitelným minimem.

Jsou to:
- anamnéza,
- somatické vyšetření + komplexní vyšetření gynekologické, včetně vyšetření per rectum dvěma lékaři,
- základní hematologické vyšetření,
- biochemie s jaterními testy a ledvinovými funkcemi,
- Ksk, HbsAg, (HIV se souhlasem pacientky), anti HCV při patologii jaterních testů,
- rtg – zadopřední snímek plic,
- cystoskopie,
- ultrasonografie ledvin,
- onkogynekologická rozvaha.

Provedení výše uvedených vyšetření považujeme za obligatorní u všech případů prokázaného mikroinvazivního a invazivního karcinomu děložního hrdla. Onkogynekologická rozvaha (tato rozvaha je týmovou záležitostí – provádí ji gynekolog s nejvyšší kvalifikací v oboru, radiační onkolog s nejvyšší atestací v oboru, histopatolog a radiodiagnostik.

8. Dostačuje k terapeutické rozvaze

Zhodnocení bodu 6 a 7 rozhoduje o dalším postupu léčby spolu s vyhodnocením prognostických kritérií.

9. Nedostačuje – konizace (rekonizace)

Konizaci (jakoukoliv technikou) po minibiopsii, kyretáži či excizi indikujeme v případech, kdy his-

topatologický nález nedostačuje k terapeutické rozvaze vzhledem k limitované velikosti vzorku. V případech, že histopatologický nález z konizátu nedostačuje k terapeutické rozvaze, je možno provést rekonizaci.

10. Fakultativní vyšetření

Tato vyšetření jsou indikována individuálně k zpřesnění terapeutické rozvahy.

– MR (volumometrie) v případech, kdy ovlivní léčbu,

– komplexní gynekologická ultrasonografie (abdominální, transvaginální event. transrektální) lokalizace nádoru, volumometrie, ledviny),

– CT: malá pánev, břicho, retroperitoneum (pro volumometrii méně přínosná než výše uvedené metody, větší informace o velikosti lymfatických uzlin v retroperitoneu),

– intravenózní urografie (IVU) event. dynamická scintigrafie,

– rektoskopie,

– koloskopie, ev. irigografie,

– SCC,

– lymfografie.

11. Terapeutická rozvaha

Terapeutickou rozvahu provádí konzilium ve složení

– gynekolog s nejvyšší atestací v oboru,

– radiační onkolog s nejvyšší atestací v oboru,

s konzultací radiodiagnostika a histopatologa. V některých případech o léčebném postupu může spolurozhodovat i další odborník podle interního stavu event. příslušných rizik. Základní rozvahou je rozhodnutí o primární chirurgické léčbě a indikaci chirurgicko-patologického stagingu nebo o primární léčbě radioterapií.

12. Konizace – dostatečný výkon

Konizace je dostatečným výkonem – všechny nálezy vyžadují plnou informovanost ženy, poučení a její souhlas s dispenzarizací;

– u stadia T1a1 žena ve fertilním věku, přeje si těhotenství, není angioinvaze, léze nedosahuje hranice preparátu;

– u stadia T1a1 žena ve fertilním věku, přeje si těhotenství, není angioinvaze, léze dosahuje hranice preparátu;

– u stadia T1a1 žena vysoce riziková k chirurgickému výkonu, není angioinvaze, léze nedosahuje hranice preparátu;

– u stadia T1a1 – není angioinvaze, léze nedosahuje hranice preparátu, poučení a souhlas s dispenzarizací.

13. Follow up

Komplexní gynekologické vyšetření včetně

– KOLPO a cytologické kontroly po 3 měsících/ 1 rok,

– KOLPO a cytologické kontroly po 4 měsících/ 2., 3. rok,

– KOLPO a cytologické kontroly po 6 měsících dále.

Suspektní nebo pozitivní cytologie indikuje rekonizaci a podle výsledku adekvátní postup. Konzervativní postup předpokládá plnou informovanost pacientky a její souhlas.

Prebioptické metody (kolposkopii a cytologii) lze doplnit po 6 až 12 měsících HPV-HR testací.

Při negativitě cytologie i HPV HR testace lze další kontroly prodloužit na 6 měsíců až 1 rok.

14. Primární radioterapie

– Primární radioterapie je indikována jako metoda volby od stadia IIb a výše.

– Primární radioterapie je indikována jako metoda volby od stadia Ia a výše v případech kontraindikace operační léčby nebo v případech vysokého operačního rizika (věk, interní stav pacientky, interkurentní onemocnění).

– Primární radioterapie je indikována u stadia IIa s infiltrací parakolpií.

– Primární radioterapie je indikována jako metoda volby v případě, že pacientka nesouhlasí s primárním operačním řešením.

Viz standard pro primární radioterapii ZN děložního hrdla - SROBF.

15. Chirurgická intervence

Rozsah chirurgické intervence je indikován na základě terapeutické rozvahy (bod 11). U časných stadií cervikálních karcinomů lze provést identifikaci sentinelové uzliny (SLNM) patentovou modří a radiokoloidem technecia (^{99m}Tc), s jejím peroperačním vyšetřením. Pozitivita sentinelové uzliny má vést k indikaci radikální hysterektomie v rozsahu III. typu, nebo k ukončení operace a indikace primární radikální chemoradioterapie. Detekce sentinelové uzliny v současné době v žádné indikaci nenahrazuje provedení systematické pánevní lymfadenektomie. SLNM pomáhá k přesnějšímu histopatologickému zpracování a při peroperační pozitivitě modifikuje terapeutický postup.

16. Laparoskopická lymfadenektomie + trachelo plastika (rekonizace) s SLNM

Tento výkon je indikován v onkogynekologických centrech splňujících kritéria pro endoskopickou operační léčbu pro ženy ve fertilním věku, přející si těhotenství ve stadiu T1a1 s angioinvazí, T1a2 a stadia IB1 nádorů do 20 mm v největším rozměru. Při peroperačním zjištění pokročilejšího onemocnění (infiltrace lymfatických uzlin – peroperační FS) konverze na abdominální radikální hysterektomii Wertheim typ III nebo ukončení operace a indikace primární radikální chemoradioterapie. Identický postup je doporučen v případě pooperačního zjištění infiltrace lymfatických uzlin z definitivní histologie

nebo v případech, kdy nádor dosahuje hranice tracheloplastiky (rekonizace).

17. Hysterektomie abdominální, vaginální, laparoskopicky asistovaná vaginální

Je indikována ve stadiu T1a1 u žen nepřejících si další těhotenství. U pokročilejších stadií je tento výkon nutno hodnotit jako inadekvátní operaci.

18. Radikální hysterektomie sec. Wertheim (typ II)/RVH + laparoskopická lymfadenektomie ev. SLNM

Tento výkon je indikován u stadia T1a2, T1b1 (u nádorů do 2 cm) s transpozicí nebo bez transpozice ovarií podle věku. Alternativním postupem v onkogynekologických centrech, splňujících kritéria pro endoskopickou operativu, je radikální vaginální hysterektomie sec. Schauta + laparoskopická lymfadenektomie. SLNM lze provést, při peroperačním zjištění pokročilejšího onemocnění (infiltrace lymfatických uzlin – peroperační FS) je nutná radikální hysterektomie Wertheimova typ III nebo ukončení operace a indikace primární radikální chemoradioterapie.

19. Radikální hysterektomie sec. Wertheim (typ III)

Tento výkon je indikován u stadia T1b1 větší než 2 cm, T1b2, T2a. U stadia T1b2 („bulky nádorů") je alternativou chirurgické léčby primární radikální chemoradioterapie (radioterapie), nebo neoadjuvantní chemoradioterapie založená na cisplatině s následnou radikální chirurgickou léčbou.

20. Explorativní laparotomie

Je-li peroperační nález nádorové infiltrace parametrií a je-li operaci možné ukončit s ponecháním dělohy, je tento postup metodou volby. Následuje radikální radioterapie (chemoradioterapie) (viz bod 26). Tento postup umožňuje následnou kurativní radioterapii. Podobně lze postupovat při zjištění pozitivity sentinelové uzliny nebo objemných paketů pozitivních uzlin.

21. Vyhodnocení chirurgické intervence, stanovení prognostických kritérií

Zhodnocení histopatologického nálezu a adekvátnosti operačního zákroku. Toto vyhodnocení chirurgické intervence provádí gynekolog s nejvyšší atestací v oboru a radiační onkolog s nejvyšší atestací v oboru. Rozsah adekvátní radikality je dán typem operace viz bod 16, 17, 18, 19. Za adekvátní lymfadenektomii je považována systematická pánevní lymfadenektomie oboustranná zahrnující společné ilické, zevní ilické, supra-infraobturátorové (hypogastrické), parametriální, presakrální, laterosakrální uzliny. V novém chirurgickém stagingu, kterým se řídí poslední verze TNM klasifikace (5. vydání), je pro kategorii N0 třeba minimální zisk 10 lymfatických uzlin. Tento počet byl stanoven s ohledem i na rozvojové země. V standardním chirurgickém postupu odpovídá zisk do 20 uzlin samplingu, při systematicky provedené pánevní lymfadenektomii je za adekvátní považován zisk více než 20 lymfatických uzlin. Guideline požaduje k hodnocení „adekvátní" operace zisk více než 20 lymfatických uzlin z pánevní lymfadenektomie.

Prognostická kritéria:

– adekvátnost chirurgické intervence, rozsah onemocnění (pTNM klasifikace), histologický typ, angioinvaze, rozsah postižení regionálních lymfatických uzlin.

22. Operace dostatečný výkon

Rozsah nádorového postižení odpovídá indikační šíři bodu 16, 17, 18.

23. Follow up

Ženu dispenzarizuje a kontroluje pracoviště, které provádí hlavní modalitu komplexní léčby (komplexní léčbu).

Interval: 1. a 2. rok každé 3 měsíce, 3., 4., 5. rok každých 6 měsíců, poté každý 1 rok;

– kontroly standardně: komplexní gynekologické vyšetření,

– SCC (vyšetření fakultativní),

– v 1. roce ultrasonografie malé pánve, ledvin, KO a dif., biochemie včetně renálních funkcí, opakovat jednou ročně,

– další vyšetření pouze podle symptomatologie, klinické indikace (CT, rtg S-P aj.),

– u žen po adnexektomii není HRT/ERT kontraindikována.

Žena v kompletní remisi po konzervativní dělohu zachovávající operaci:

Komplexní gynekologické vyšetření včetně:

– KOLPO a cytologické kontroly po 3 měsících/1. rok,

– KOLPO a cytologické kontroly po 4 měsících/2., 3. rok,

– KOLPO a cytologické kontroly po 6 měsících dále.

Prebioptické metody (kolposkopii a cytologii) lze doplnit po 6 až 12 měsících HPV-HR testací. Při negativitě cytologie i HPV HR testace lze další kontroly prodloužit na 6 měsíců až 1 rok.

24. Adjuvantní radioterapie

Je indikována:

– u skupiny N1 (u nálezu více než jedné mikrometastázy v jedné lymfatické uzlině);

– jakéhokoli typu hysterektomie od stadia pT1a2 a výše s výsledkem NX, tj. u inadekvátní operace (alternativním postupem je časná reoperace s lymfadenektomií a parametrektomií);

– u stadia pT1b1 v případě nádorové infiltrace více než dvou třetin stromatu děložního hrdla a v přítomnosti dalších rizikových faktorů;

– u stadia pT1b2;

– u stadia pT2a se adjuvantní léčba řídí rozsahem nádorového postižení děložního hrdla a ade-

kvátnosti poševní manžety (2 cm do zdravé tkáně v nefixovaném preparátu);

– u histopatologicky zjištěných pokročilejších stadií než pT2a je nutno postupovat individuálně.

25. Follow up

Ženu dispenzarizuje a kontroluje pracoviště, které provádí komplexní léčbu. Primárně chirurgicky léčené pacientky dispenzarizuje onkogynekologické centrum s konziliárním využitím radioterapeutického pracoviště. Primárně ozařované pacientky dispenzarizuje radioterapeutické pracoviště s využitím gynekologických konzilií.

Interval: 1. a 2. rok každé 3 měsíce, 3., 4., 5. rok každých 6 měsíců, poté každý 1 rok.

Kontroly standardně:

– komplexní gynekologické vyšetření,

– SCC (fakultativně),

– v 1. roce ultrasonografie malé pánve, ledvin, KO a dif., biochemie včetně renálních funkcí, opakovat jednou ročně,

– mamografie po 45. roce podle standardních screeningových intervalů za 1-2 roky,

– další vyšetření pouze podle symptomatologie, klinické indikace (CT, rtg S-P aj.),

– u žen po léčbě není HRT/ERT kontraindikována.

26. Primární radioterapie

Je-li peroperační nález nádorové infiltrace parametrií a je-li operaci možné ukončit s ponecháním dělohy, je tento postup metodou volby (viz bod 20). Následuje radikální radioterapie nebo chemoradioterapie, viz standard pro primární radioterapii ZN děložního hrdla SROBF.

LITERATURA

1. Novotvary 2000 ČR, ÚZIS ČR a NOR ČR 2004.
2. **Belšan, T., Rob, L., Neuwirth, J., Lisý, J.:** Přínos MRI k určení stadia karcinomu děložního hrdla. Čes. radiol., 2001, 55, 5, s. 331-337.
3. **Benedetti-Panici, P., Greggi, S., Colombo, A., et al.:** Neoadjuvant chemotherapy and radical surgery versus exclusive radiotherapy in locally advanced squamous cell cervical cancer: results from the Italian multicenter randomised study. J. Clin. Oncol., 2002, 20, 1, p. 179-188.
4. **Creasman, W. T., Zaino, R. J., Major, F. J., et al.:** Early invasive carcinoma of the cervix (3-5mm invasion): risk factors and prognosis. A Gynecologic Oncology Group study. Am. J. Obstet. Gynecol., 1998, 178, 1, p. 62-65.
5. **Fine, B. A., Hempling, R. E., Piver, M. S., et al.:** Severe radiation morbidity in carcinoma of the cervix: impact of pretherapy surgical staging and previous surgery. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 1995, 31, 4, p. 717-723.
6. **Levenback, C., Coleman, R. L., Burke, T. W., et al.:** Lymphatic mapping and sentinel node identification in patient with cervix cancer undergoing radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy. J. Clin. Oncol., 2002, 20, 3, p. 688-693.
7. **Lu, K. H., Burke, T. W.:** Early cervical cancer. Curr. Treat. Options Oncol., 2000, 1, 2, p. 147-155.
8. **Michalas, S., Rodolakis, A., Voulgaris, Z., et al.:** Management of early-stage cervical carcinoma by modified (Type II) radical hysterectomy. Gynecol. Oncol., 2002, 85, 3, p. 415-422.
9. **Moore, D. H.:** The role of radical hysterectomy and neoadjuvant chemotherapy in carcinoma of the cervix. Curr. Oncol. Rep., 2002, 4, 2, p. 145-151.
10. **Peters, W. A. 3rd, Liu, P. Y., Barrett, R. J. 2nd, et al.:** 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, 8, p. 1606-1613.
11. **Perez, C. A., Grisby, P. W., Nene, S. M., et al.:** Effect of tumor size on the prognosis of carcinoma of the uterine cervix treated with irradiation alone. Cancer, 1992, 69, 11, p. 2796-2806.
12. **Pearcey, R., Brundage, M., Drouin, P., et al.:** Phase III trial comparing radical radiotherapy with and without cisplatin chemotherapy in patients with advanced squamous cell cancer of the cervix. J. Clin. Oncol., 2002, 20, 4, p. 966-972.
13. **Rob, L., Citterbart, K., Svoboda, B., et al.:** Guideline gynekologických zhoubných nádorů (GZN) II. Standard – primární komplexní léčba operabilních stadií zhoubných nádorů děložního hrdla. Čes. Gynekol., 1999, 64, 6, s. 376-382.
14. **Wagenaar, H. C., Timbos, J. B., Postema, S., et al.:** Tumor diameter and volume assessed by magnetic resonance imaging in the prediction of outcome for invasive cervical cancer. Gynecol. Oncol., 2001, 82, 3, p. 474-482.
15. **Zaino, R. J., Ward, S., Delgado, G., et al.:** Histopathologic predictors of the behavior of surgically treated stage IB squamous cells carcinoma of the cervix. A Gynecology Group study. Cancer, 1992, 69, 7, p. 1750-1758.

Doc. MUDr. Lukáš Rob, CSc.
Gynekologicko-porodnická klinika
2. LF UK a FN Motol
V Úvalu 84
150 06 Praha 5
e-mail: LUKAS.ROB@LFMOTOL.CUNI.CZ