

University of Groningen

## Lymph node staging in colon cancer

Kelder, Wendy

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

2008

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Kelder, W. (2008). *Lymph node staging in colon cancer*. s.n.

**Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

**Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

*Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.*

## Chapter 9

Samenvatting, conclusies en toekomstperspectieven

## **Samenvatting**

De prognose van patiënten met coloncarcinoom hangt samen met de mate van tumorinvasie in de darmwand en de aan- of afwezigheid van lymfekliermetastasen en afstandsmetastasen. Adjuvante chemotherapie is voorbehouden aan patiënten met kliermetastasen (stadium III) en enkele patiënten met ongunstige tumorkenmerken uit de stadium II groep (zonder kliermetastasen). Derhalve is het van groot belang om een goede stagering van de lymfeklierstatus te verrichten. Ondanks de gunstige prognose van patiënten zonder kliermetastasen, zullen toch 20 tot 30% van deze patiënten een recidief ontwikkelen, zelfs na een schijnbaar curatieve resectie.<sup>1</sup> In dit proefschrift wordt een poging gedaan om de huidige lymfeklierstagering bij het coloncarcinoom te verbeteren en de patiënten met een hoog risico in de huidige stadium II groep te identificeren, die baat zouden kunnen hebben bij adjuvante behandeling. Dit wordt gedaan op basis van de veronderstelling dat er zich een aantal patiënten in de stadium II groep bevinden, die in geval van nauwkeuriger onderzoek eigenlijk tot de stadium III groep (patiënten met kliermetastasen) zouden behoren. Met andere woorden, waarschijnlijk wordt een deel van de kliermetastasen met de huidige onderzoekstechnieken gemist, waardoor patiënten onterecht als kliernegatief worden geclassificeerd. Enerzijds zou het kunnen zijn dat er te weinig klieren uit een preparaat worden geïdentificeerd en onderzocht waardoor juist de klieren met metastasen worden gemist. Anderzijds is het mogelijk dat de klieren onvoldoende nauwkeurig worden onderzocht en dat de kleinere metastasen over het hoofd gezien worden. Beide hypothesen worden onderzocht in dit proefschrift.

**Hoofdstuk 2** start met een onderzoek naar de kwaliteit van de lymfeklierstagering bij patiënten met een colon carcinoom in Noord-Nederland. Het belangrijkste doel was om de invloed van het aantal onderzochte klieren op overleving in kaart te brengen. Hiervoor werden gegevens van 2.281 patiënten met een stadium I, II of III coloncarcinoom geanalyseerd, waarbij speciale aandacht was voor factoren die gerelateerd waren aan het aantal onderzochte klieren. Tevens werd gekeken naar het effect van kenmerken van de primaire tumor en klier aantallen op de klierstatus en overleving. De onderzoeksdata toonden dat in het merendeel van de de gevallen minder dan de twaalf vereiste klieren (zoals beschreven in de richtlijn) werden onderzocht.<sup>2</sup> Het aantal onderzochte klieren was gerelateerd aan het T-stadium van de tumor, de tumorlokalisatie en de leeftijd van de patiënt. In geval van een toename van het aantal onderzochte klieren nam ook het percentage patiënten met een klierpositieve status toe. Het overlevingsvoordeel dat ontstond bij een toename van het aantal onderzochte klieren kon verklaard worden door

migratie van het tumorstadium. Bij een groter aantal onderzochte klieren worden meer kliermetastasen gevonden, waardoor de groep patiënten die onterecht als kliernegatief (stadium II) is afgegeven, kleiner wordt. Deze patiënten gaan naar de stadium III groep, waar ze een subgroep vormen met een relatief gunstige prognose. Op deze manier verbetert de prognose in zowel de stadium II als de stadium III groep. Bovendien kan dit uiteindelijk tot een overlevingsvoordeel voor de gehele groep patiënten leiden, aangezien meer patiënten in aanmerking komen voor adjuvante chemotherapie.

In **hoofdstuk 3** werd het effect onderzocht van een andere fixatiemethode, modified Davidson's fixatief (mDF) op het aantal onderzochte klieren en klierstatus bij patiënten met een coloncarcinoom. Hiervoor werden resultaten van 125 patiënten bij wie het colonpreparaat gefixeerd werd met mDF, vergeleken met een groep van 117 patiënten bij wie fixatie op conventionele wijze werd uitgevoerd. Er was speciale aandacht voor het aantal gedetecteerde klieren en de grootte van de gevonden kliermetastasen. Alle klieren werden gekleurd met haematoxyline en eosine (H&E). Met mDF werd een mediaan aantal klieren van 13 gevonden versus 5 bij de conventionele techniek. Er werden kleinere metastasen gevonden en meer micrometastasen (16% vs 6 %). Het percentage patiënten met kliermetastasen nam toe van 30 naar 41%. Dit betekent dat er een toename was van 11% in het aantal patiënten dat in aanmerking kwam voor adjuvante chemotherapie.

In de volgende drie hoofdstukken worden de resultaten gepresenteerd van het toepassen van de schildwachtklier (SWK) procedure bij het coloncarcinoom. In **hoofdstuk 4** wordt een kleine pilot studie van 30 patiënten beschreven waarin de toepasbaarheid van het SWK-concept in vivo wordt getest met de kleurstof Patent Blue. Naast de toepasbaarheid op zich werd met behulp van immunohistochemie (IHC) en reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) gezocht naar het voorkomen van micrometastasen en tumor RNA in lymfeklieren, in dit geval 'upstaging' genoemd. Hiervoor werd Patent Blue subserosaal rondom de tumor geïnjecteerd. Van elke SWK werden op 3 niveaus coupes onderzocht. Wanneer bij routine H&E onderzoek geen metastasen werden gevonden, werd IHC op cytokeratinen en RT-PCR toegepast. De procedure gelukte bij 29 van de 30 patiënten (97%). Bij tien patiënten werd opwaardering van het tumorstadium gezien: in zeven gevallen door IHC; drie keer door RT-PCR. Bij 3 patiënten werd aberrante lymfeklierdrainage gezien. Concluderend kan gesteld worden dat de SWK procedure bij het coloncarcinoom toepasbaar is en accuraat. De procedure leidt tot upstaging bij 33% van de patiënten wanneer IHC en RT-PCR gecombineerd worden. De resultaten van deze studie werden

bevestigd in een grotere multi-center studie in **hoofdstuk 5**. Zonder RT-PCR, maar met IHC werd 18% opwaardering van het tumorstadium gezien. Het zou kunnen zijn dat deze patiënten behoren tot de hoog-risico patiënten in de huidige kliernegatieve groep (stadium II). Dit zouden patiënten kunnen zijn die misschien baat hebben bij adjuvante chemotherapie. Echter, de werkelijke betekenis van de opwaardering van tumorstadium door IHC en RT-PCR uit deze studie kan pas worden vastgesteld, nadat de resultaten van de follow-up bekend zijn. In **hoofdstuk 6** werd de validiteit van het SWK concept onderzocht door de toepassing van RT-PCR op het carcino-embryonic antigeen (CEA) op tumornegatieve SWK en non-SWK. Bij 9 patiënten met kliernegatieve colontumoren na H&E en IHC kleuring waren de SWK ook negatief na RT-PCR. Alle bijbehorende non-SWK waren ook negatief na RT-PCR. Hieruit kon geconcludeerd worden dat kliernegatieve SWK de tumornegatieve status van de non-SWK goed voorspellen, hetgeen voor de betrouwbaarheid van het SWK concept bij coloncarcinoom pleit.

**Hoofdstuk 7** bestaat uit een review over de toepassing van adjuvante chemotherapie bij het coloncarcinoom met speciale aandacht voor chemotherapie bij patiënten met een stadium II colon tumor. Sinds de eind tachtiger jaren is chemotherapie met daarbij in ieder geval 5-fluorouracil (5-FU) de standaard adjuvante behandeling bij patiënten met een stadium III colon tumor. De rol van deze adjuvante therapie bij patiënten zonder kliemetastasen is controversieel. Er is echter indirect bewijs voor een gunstig effect van chemotherapie bij patiënten met een hoog-risico stadium II colon tumor. Dit hoge risico kan bestaan uit een T4 tumor, tumorperforatie, darmobstructie en/of een te laag aantal gerapporteerde klieren in het pathologie verslag.

### **Conclusie en toekomstperspectieven**

Dit proefschrift laat zien dat er ruimte is voor verbetering in de staging van het coloncarcinoom en daarmee de selectie van patiënten die in aanmerking komen voor adjuvante chemotherapie. Dit zou kunnen worden bereikt door het onderzoeken van een groter aantal lymfeklieren en een betere selectie hiervan of door een nauwkeuriger onderzoek van de al gedetecteerde klieren door de patholoog. In deze paragraaf zullen beide onderdelen separaat worden belicht. Daarnaast worden alternatieve opties voor verbetering beschreven.

Hoewel in internationale richtlijnen een minimum aantal van 12 klieren wordt beschreven om adequaat te kunnen stageren en behandelen bij het coloncarcinoom, zou een groter aantal klieren wel eens beter kunnen zijn.<sup>2</sup> Met een speciale techniek voor 'fat-clearance' werd een mediaan aantal van 50 klieren per preparaat gevonden.<sup>3</sup> Ook is bekend dat meer dan 70% van de metastatische klieren kleiner dan 5 mm in diameter zijn en dat meer dan 30 klieren moeten worden onderzocht om met een 85% waarschijnlijkheid de werkelijke kliernegatieve status te kunnen voorspellen bij het standaard histologisch onderzoek.<sup>3,4</sup> Bovenstaande gegevens suggereren dat de patholoog slechts een steekproef neemt van de regionale lymfeklieren bij een coloncarcinoom, zelfs wanneer de vereiste twaalf klieren worden onderzocht.

De kans dat er enkele kliermetastasen worden gemist, lijkt niet gering. Dit geldt zeker indien bij een substantieel aantal patiënten minder dan twaalf klieren worden gedetecteerd, zoals beschreven in hoofdstuk 2 van dit proefschrift en andere studies.<sup>5</sup> Verschillende studies hebben getracht een aantal klieren te vinden dat het minimum aangeeft dat onderzocht moet worden om een adequate staging uit te voeren. Echter, dit aantal varieerde van zes tot achttien tot een zo hoog mogelijk aantal klieren in een studie van Goldstein et al.<sup>3,6-9</sup> Op basis van deze en onze gegevens is het onmogelijk om een bewijs te vinden voor een minimum aantal klieren dat onderzocht moet worden. Totdat dit bewijs er is, zal er gestreefd moeten worden om met de huidige technieken zoveel klieren als mogelijk te onderzoeken.

Naast het idee 'meer is beter' bij klierstaging, moet zoals in de inleiding geschreven is, aandacht gegeven worden aan intensief pathologisch onderzoek van de gedetecteerde klieren. Enkele auteurs hebben een negatief effect op overleving aangetoond bij patiënten met nodale micrometastasen bij het coloncarcinoom.<sup>10-12</sup> Liefers et al vonden een duidelijk onderscheid in overleving in een groep patiënten met stadium II tumoren, gebaseerd op de aan- of afwezigheid van tumor RNA in lymfeklieren.<sup>12</sup>

De technieken om een groot aantal lymfeklieren te detecteren en micrometastasen aan te tonen zijn tijdrovend, arbeidsintensief en kostbaar. Het gebruik van mDF, zoals beschreven in hoofdstuk 3, is een goedkoop en eenvoudig alternatief om de klieropbrengst te verhogen. De SWK procedure met de validatie door middel van RT-PCR zoals beschreven in de hoofdstukken 4-6, is betrouwbaar in het voorspellen van de aanwezigheid van micrometastasen, geïsoleerde tumorcellen of tumor RNA in de andere, non-SWK-en. Een tweetal andere studies toonden identieke resultaten met IHC.<sup>13,14</sup> Het lijkt voldoende om arbeidsintensieve, dure 'ultrastaging' alleen op de SWK toe te passen, hetgeen ook veel

tijd bespaart in het pathologisch onderzoek. Een andere functie van de SWK procedure is het detecteren van aberrante lymfedrainage, hetgeen voorkomt bij 2-9% van de patiënten.<sup>15-17</sup> Deze aberrante drainage zou vooral bij tumoren op de rectosigmoidale overgang interessant kunnen zijn, omdat deze tumoren zich qua metastasering zowel als sigmoid- en/of als rectumcarcinoom kunnen gedragen. Binnenkort zullen we een studie opstarten, waarbij we de SWK procedure juist bij deze tumoren zullen toepassen.

In ogenschouw nemend dat ons uiteindelijke doel is de overleving van patiënten met coloncarcinoom te verbeteren, zal naast verbetering op pathologisch gebied ook gedacht moeten worden aan een verbetering van de chirurgische techniek. Hier zou een parallel kunnen worden getrokken aan de invoering van de totale mesorectale excisie bij het rectumcarcinoom. Het uitvoeren van een adequate resectie met een intact preparaat leidt tot een significant betere overleving bij het rectumcarcinoom.<sup>18</sup> Als ondersteuning voor het belang van een goede chirurg bij colonresecties kan ook aangevoerd worden, dat de lange termijn resultaten significant beter zijn, wanneer een gespecialiseerde chirurg de operatie uitvoert in een ziekenhuis met een hoger volume voor colonchirurgie.<sup>19-21</sup> Los van de klieropbrengst is een nette operatietechniek waarschijnlijk van essentieel belang om intra-abdominale tumorspill door mobilisatie van de tumor te voorkomen. In het kader hiervan is het van belang om de 'no-touch' techniek te bespreken. Bij deze techniek worden eerst de aanvoerende arterie en afvoerende vene geligeerd, alvorens het te reseceren colondeel te mobiliseren. Onderdeel van deze techniek is het werken in bestaande anatomische vlakken en het vermijden van manipulatie van de tumor en bijbehorende lymfebanen. Ook dwingt het in een vroeg stadium ligeren van aanvoerende arterie en afvoerende vene aan de basis van het mesenterium tot het verrichten van een ruime klierdissectie. Turnbull et al vonden een duidelijke verbetering van de ziektevrije overleving na introductie van deze techniek.<sup>22</sup> In een prospectief onderzoek werd geen significant overlevingsvoordeel door deze techniek aangetoond.<sup>23</sup> Wel werd een lagere incidentie van levermetastasering gevonden. Hoewel niet duidelijk is welk onderdeel van de chirurgische techniek nu van belang is, mag het effect van de chirurg zeker niet verwaarloosd worden wat betreft de prognose van patiënten met een coloncarcinoom. Inmiddels is door ons een studie opgestart, waarin de invloed van de individuele chirurg en patholoog op het aantal gerapporteerde lymfeklieren en overleving wordt onderzocht.

In de nabije toekomst is het waarschijnlijk mogelijk om de pre-operatieve kennis van het tumorstadium te verbeteren door gebruik te maken van nieuwe beeldvormende

technieken. Tegenwoordig is bij het rectumcarcinoom MRI, magnetic resonance imaging, de gouden standaard voor het optimaal in beeld brengen van de relatie van de tumor tot de endopelviene fascia. MRI kan de circumferentiele resectie marge met een grote betrouwbaarheid voorspellen, hetgeen de mogelijkheid biedt om pre-operatief de patiënten te identificeren met een grotere lokale tumor uitbreiding en daarmee de grotere kans op een lokaal recidief.<sup>24</sup> Deze patiënten hebben voordeel bij pre-operatieve (chemo)radiotherapie. Tot voor kort was er geen geschikte beeldvorming voor de diagnostiek van lymfekliermetastasering. Echter, de laatste jaren wordt MRI met ultra kleine paramagnetische ijzeroxide deeltjes (USPIO) als contrastmiddel gebruikt voor diagnostiek van kliermetastasen. Het biedt op dit gebied een grotere diagnostische precisie dan de conventionele MRI-scan en maakt een combinatie van anatomische en functionele beeldvormende diagnostiek mogelijk.<sup>25</sup> USPIO-MRI is toegepast bij verschillende solide tumoren en lijkt nuttig in het maken van onderscheid tussen benigne en maligne lymfeklieren, hetgeen de pre-operatieve kennis wat betreft het tumorstadium kan verbeteren.<sup>26-33</sup> Bij colontumoren zou MRI nuttig kunnen zijn, maar het is vooralsnog niet essentieel wat betreft de pre-operatieve planning van chemo- en radiotherapie. Dit geldt mede, omdat de lokale situatie bij colontumoren vaak meer ruimte biedt voor een uitgebreide resectie (indien nodig). Ook is de kans op een lokaal recidief bij het coloncarcinoom beduidend kleiner dan bij het rectumcarcinoom. Er zijn vooralsnog geen studies verschenen die aantonen dat er een indicatie is voor pre-operatieve chemotherapie bij het coloncarcinoom. Totdat die er zijn, lijkt er geen indicatie voor USPIO-MRI bij het coloncarcinoom. Er is een studie verschenen die gebruik maakte van MRI lymfangiografie voor de detectie van de SWK.<sup>34</sup> Echter, naar onze mening is de intra-operatieve SWK detectie met patent blauw veel goedkoper, sneller en eenvoudiger dan deze techniek en is er vooralsnog geen plaats voor deze MRI scan bij patiënten met een coloncarcinoom.

Naast de behoefte aan voldoende lymfeklieren voor een betrouwbare TNM staging en technieken voor ultrastaging, zullen we in de toekomst bij de selectie van patiënten voor adjuvante therapie waarschijnlijk meer gebruik gaan maken van de genetische en biologische eigenschappen van tumoren. Moleculair biologische factoren kunnen helpen bij de selectie van patiënten met een stadium II of III coloncarcinoom die kans hebben op een tumorrecidief na operatie en die baat hebben bij adjuvante chemotherapie gebaseerd op 5-fluorouracil. Dit is uitgebreid in kaart gebracht bij het mammacarcinoom.<sup>35-37</sup> Ook bij het coloncarcinoom hebben enkele studies laten zien dat het mogelijk is om de prognose



van stadium II patiënten te voorspellen door middel van gen-expressie profielen van de primaire tumor.<sup>38,39</sup> Het is nog niet bekend of de patiënten die met deze techniek herkend worden als potentiële hoog-risico patiënt, baat hebben bij adjuvante therapie. De resultaten van follow-up studies moeten hiervoor afgewacht worden. Naast het identificeren van patiënten met een risico op recidief tumor, kan gen-expressie helpen bij het identificeren van patiënten die voordeel hebben bij het toepassen van adjuvante chemotherapie. Een voorbeeld hiervan zijn patiënten met een hoog thymidylate synthase expressieniveau die baat hebben bij 5-fluorouracil, terwijl patiënten met lage expressieniveaus een slechtere uitkomst hebben wanneer ze behandeld worden met adjuvante therapie.<sup>40</sup> Een andere mogelijkheid betreft het geven van een therapie gebaseerd op biologische eigenschappen van een tumor. Hierbij kan gedacht worden aan signaal transductie inhibitie, zoals toegepast bij patiënten met een stadium IV coloncarcinoom met middelen als bevacizumab (anti-VEGF) en cetuximab (anti-EGFR).<sup>41,42</sup> Deze therapie moet nog onderzocht worden in een klinische setting bij patiënten met stadium II of III coloncarcinoom.

Niet alle patiënten die adjuvant behandeld worden, hebben baat bij de therapie. Sommige patiënten ontwikkelen ondanks de adjuvante therapie hoe dan ook metastasen, terwijl anderen, zowel met als zonder therapie, ziektevrij zullen blijven.<sup>43</sup> Aan de andere kant is het mogelijk dat de 20-30% patiënten met een stadium II tumor die een recidief ontwikkelen, baat hebben bij adjuvante chemotherapie, terwijl daar volgens de huidige richtlijnen geen strikte indicatie voor is. Het ontwikkelen van betere selectiecriteria voor adjuvante therapie bij het coloncarcinoom is de uitdaging voor de toekomst. Door betere selectiecriteria moet zowel de groep patiënten met kliermetastasen die geen baat heeft bij chemotherapie en dus onterecht adjuvant behandeld wordt, als de groep patiënten zonder kliermetastasen die wel voordeel heeft bij chemotherapie, geïdentificeerd worden. Hiermee kan veel onnodige behandeling worden voorkomen. Vooralsnog is klierstatus het best beschikbare criterium voor het voorspellen van het verloop van de ziekte postoperatief. Met de huidige vooruitgang in genetica en proteomics is het waarschijnlijk dat binnen enkele jaren de mogelijkheid bestaat om met behulp van het geno- en fenotype van de primaire tumor de prognose van patiënten te voorspellen.<sup>44</sup> Deze gegevens zijn mogelijk veel informatiever dan lymfeklierstatus, en adjuvante therapie kan misschien wel gebaseerd worden op de resultaten van moleculaire tumor diagnostiek. Echter, vooralsnog is het moment nog niet aangebroken voor enkel en alleen moleculaire diagnostiek bij het coloncarcinoom. En tot

die tijd is het voor zowel chirurgen als pathologen van het grootste belang om een adequate klierstagering uit te voeren waarin zoveel mogelijk klieren op een nauwkeurige wijze worden onderzocht.

## Reference List

1. Hermanek P. pTNM and residual tumor classifications: problems of assessment and prognostic significance. *World J Surg* 1995; 19: 184-90.
2. Greene, F. L. Page D. L. Fleming I. D. et al. American Joint Committee on Cancer - Cancer staging handbook, TNM classification of malignant tumors. 129. 2002. New York: Springer.
3. Haboubi NY et al. The novel combination of fat clearance and immunohistochemistry improves prediction of the outcome of patients with colorectal carcinomas: a preliminary study. *Int J Colorectal Dis* 1998; 13: 99-102.
4. Hida J et al. Metastases from carcinoma of the colon and rectum detected in small lymph nodes by the clearing method. *J Am Coll Surg* 1994; 178: 223-8.
5. Baxter NN et al. Lymph node evaluation in colorectal cancer patients: a population-based study. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 219-25.
6. Fielding LP et al. Clinicopathological staging for colorectal cancer: an International Documentation System (IDS) and an International Comprehensive Anatomical Terminology (ICAT). *J Gastroenterol Hepatol* 1991; 6: 325-44.
7. Goldstein NS. Lymph node recoveries from 2427 pT3 colorectal resection specimens spanning 45 years: recommendations for a minimum number of recovered lymph nodes based on predictive probabilities. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 179-89.
8. Hernanz F et al. Colorectal adenocarcinoma: quality of the assessment of lymph node metastases. *Dis Colon Rectum* 1994; 37: 373-6.
9. Joseph NE et al. Accuracy of determining nodal negativity in colorectal cancer on the basis of the number of nodes retrieved on resection. *Ann Surg Oncol* 2003; 10: 213-8.
10. Greenson JK et al. Identification of occult micrometastases in pericolic lymph nodes of Duke's B colorectal cancer patients using monoclonal antibodies against cytokeratin and CC49. Correlation with long-term survival. *Cancer* 1994; 73: 563-9.
11. Iddings D, Ahmad A, Elashoff D, Bilchik A. The Prognostic Effect of Micrometastases in Previously Staged Lymph Node Negative (N0) Colorectal Carcinoma: A Meta-analysis. *Ann Surg Oncol* 2006; 13: 1386-92.
12. Liefers GJ et al. Micrometastases and survival in stage II colorectal cancer. *N Engl J Med* 1998; 339: 223-8.
13. Bembenek A, Schneider U, Gretschel S, Fischer J, Schlag PM. Detection of lymph node micrometastases and isolated tumor cells in sentinel and nonsentinel lymph nodes of colon cancer patients. *World J Surg* 2005; 29: 1172-5.

14. Turner RR, Nora DT, Trocha SD, Bilchik AJ. Colorectal carcinoma nodal staging. Frequency and nature of cytokeratin-positive cells in sentinel and nonsentinel lymph nodes. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127: 673-9.
15. Bilchik AJ et al. Ultrastaging of early colon cancer using lymphatic mapping and molecular analysis. *Eur J Cancer* 2002; 38: 977-85.
16. Paramo JC et al. Intraoperative sentinel lymph node mapping in patients with colon cancer. *Am J Surg* 2001; 182: 40-3.
17. Saha S et al. Ultrastaging of colorectal cancer by sentinel lymph node mapping technique--a multicenter trial. *Ann Surg Oncol* 2001; 8: 945-85.
18. Nagtegaal ID et al. Macroscopic evaluation of rectal cancer resection specimen: clinical significance of the pathologist in quality control. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1729-34.
19. Iversen LH, Harling H, Laurberg S, Wille-Jorgensen P. Influence of caseload and surgical speciality on outcome following surgery for colorectal cancer: a review of evidence. Part 2: long-term outcome. *Colorectal Dis* 2007; 9: 38-46.
20. Iversen LH, Harling H, Laurberg S, Wille-Jorgensen P. Influence of caseload and surgical speciality on outcome following surgery for colorectal cancer: a review of evidence. Part 1: short-term outcome. *Colorectal Dis* 2007; 9: 28-37.
21. Renzulli P et al. The influence of the surgeon's and the hospital's caseload on survival and local recurrence after colorectal cancer surgery. *Surgery* 2006; 139: 296-304.
22. Turnbull RB, Jr., Kyle K, Watson FR, Spratt J. Cancer of the colon: the influence of the no-touch isolation technic on survival rates. *Ann Surg* 1967; 166: 420-7.
23. Wiggers T et al. No-touch isolation technique in colon cancer: a controlled prospective trial. *Br J Surg* 1988; 75: 409-15.
24. Beets-Tan RG et al. Accuracy of magnetic resonance imaging in prediction of tumour-free resection margin in rectal cancer surgery. *Lancet* 2001; 357: 497-504.
25. Will O et al. Diagnostic precision of nanoparticle-enhanced MRI for lymph-node metastases: a meta-analysis. *Lancet Oncol* 2006; 7: 52-60.
26. Koh DM et al. Distribution of mesorectal lymph nodes in rectal cancer: in vivo MR imaging compared with histopathological examination. Initial observations. *Eur Radiol* 2005; 15: 1650-7.
27. Nishimura H et al. Preoperative esophageal cancer staging: magnetic resonance imaging of lymph node with ferumoxtran-10, an ultrasmall superparamagnetic iron oxide. *J Am Coll Surg* 2006; 202: 604-11.

28. Harada T, Tanigawa N, Matsuki M, Nohara T, Narabayashi I. Evaluation of lymph node metastases of breast cancer using ultrasmall superparamagnetic iron oxide-enhanced magnetic resonance imaging. *Eur J Radiol* 2007.
29. Heesakkers RA et al. Prostate cancer evaluated with ferumoxtran-10-enhanced T2\*-weighted MR Imaging at 1.5 and 3.0 T: early experience. *Radiology* 2006; 239: 481-7.
30. Mack MG, Balzer JO, Straub R, Eichler K, Vogl TJ. Superparamagnetic iron oxide-enhanced MR imaging of head and neck lymph nodes. *Radiology* 2002; 222: 239-44.
31. Nguyen BC et al. Multicenter clinical trial of ultrasmall superparamagnetic iron oxide in the evaluation of mediastinal lymph nodes in patients with primary lung carcinoma. *J Magn Reson Imaging* 1999; 10: 468-73.
32. Rockall AG et al. Diagnostic performance of nanoparticle-enhanced magnetic resonance imaging in the diagnosis of lymph node metastases in patients with endometrial and cervical cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2813-21.
33. Tatsumi Y et al. Preoperative diagnosis of lymph node metastases in gastric cancer by magnetic resonance imaging with ferumoxtran-10. *Gastric Cancer* 2006; 9: 120-8.
34. Torchia MG, Nason R, Danzinger R, Lewis JM, Thliveris JA. Interstitial MR lymphangiography for the detection of sentinel lymph nodes. *J Surg Oncol* 2001; 78: 151-6.
35. 't Veer LJ et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415: 530-6.
36. Ramaswamy S, Ross KN, Lander ES, Golub TR. A molecular signature of metastasis in primary solid tumors. *Nat Genet* 2003; 33: 49-54.
37. van de Vijver MJ et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 347: 1999-2009.
38. Wang Y et al. Gene expression profiles and molecular markers to predict recurrence of Dukes' B colon cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22: 1564-71.
39. Barrier A et al. Stage II colon cancer prognosis prediction by tumor gene expression profiling. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4685-91.
40. Edler D et al. Thymidylate synthase expression in colorectal cancer: a prognostic and predictive marker of benefit from adjuvant fluorouracil-based chemotherapy. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1721-8.
41. Cunningham D et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 337-45.
42. Hurwitz H et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2335-42.

43. Mulder NH. [New oncolytic agents and immunomodulators and their application]. Ned Tijdschr Geneeskd 2005; 149: 1438-40.
44. Ellis LM. A perspective on sentinel lymph node biopsy in colorectal cancer: the race between surgical technology and molecular oncology. Ann Surg Oncol 2000; 7: 475-6.

