

Kolorektaalse kartsinoomi operatsioonipreparaatide *ex vivo* värvimine metüleensinisega lümfisõlmede tuvastamise parandamiseks

Heigo Reima¹, Helgi Saar², Jaan Soplepmann^{3,4}

Eesti Arst 2011;90(9):
406–410

Saabunud toimetusse:
24.05.2011
Avaldatud internetis:
31.10.2011

¹ TÜ Kliinikumi kirurgiakliinik,
² TÜ Kliinikumi patoloogiateenistus,
³ TÜ Kliinikumi hematoloogia-onkoloogia kliinik,
⁴ TÜ hematoloogia-onkoloogia kliinik

Korrespondeeriv autor:
Heigo Reima
reima@vmh.ee

Võtmesõnad:
kolorektaalne vähk,
regionaalsed lümfisõlmed,
metüleensinine, diagnostika

Taust. Regionaalsete lümfisõlmede haaratus on kolorektaalse vähi oluline prognostiline tegur. Sellest sõltub ka edasine ravitaktika. Rahvusvahelise konsensusotsusena on minimaalne soovituslik operatsioonipreparaadist uuritud lümfisõlmede arv 12. Kirjanduse andmed näitavad, et sellise lümfisõlmede hulga leidmine on sageli raskendatud.

Eesmärk. Hinnata metüleensinisega värvimise meetodi tõhusust onkoloogilises mahus resetseeritud kolorektaalse vähi operatsioonipreparaatides olevate lümfisõlmede arvu ja suuruse selgitamisel, samuti lümfisõlmede metastaasidega patsientide arvu ning lümfisõlmede metastaaside olemasolu ja lümfisõlmede suuruse seose kindlakstegemisel.

Materjal ja meetodid. Analüüsiti TÜ Kliinikumi kirurgilise onkoloogia osakonnas 60 järjestikust *ex vivo* intraarteriaalselt manustatud metüleensinisega värvitud operatsioonipreparaati. Hinnati leitud lümfisõlmede arv, suurus ja mikroskoopiliselt metastaaside esinemine nendes.

Tulemused. Metüleensinisega värvimise abil oli võimalik kolorektaalse vähi preparaadis tuvastada 12 ja enam lümfisõlme 53 juhul (88%) ning keskmiselt leiti seal 27,4 lümfisõlme. Pääaegu pooltel juhtudel (47%) esines kasvajast haaratud lümfisõlmi. Kõigest leitud lümfisõlmedest oli 75% ja metastaatilistest lümfisõlmedest 50% väikesed, diameetriga alla 4 mm. N-positiivsetest juhtudest olid 18%-l metastaasid leitavad ainult väikestes lümfisõlmedes.

Järeldused. Metüleensinisega värvimine on lihtne, odav ja vähe aega nõudev meetod, mis võimaldab valdaval osal kolorektaalse vähi operatsioonipreparaatidest leida 12 või enam lümfisõlme.

Kolorektaalse vähi (KRV) kirurgilise ravi standard on kasvajalise soolesegmendi eemaldamine koos regionaalse lümfibasseiniga. Selleks ligeeritakse lähtekohast vastava segmendi verevarustus ja haaratatakse preparaati kogu resetseeritava soole kinnisti koos regionaalse lümfikoestikuga.

Regionaalsete lümfisõlmede (LS) preparaatide uurimine on oluline haiguse staadiumi määramiseks. Metastaaside olemasolu LSides on üks tähtsamaid KRV prognostilisi tegureid. Haiguse II staadiumis, kui LSides metastaasid puuduvad, on 5 aasta elulemus 83% ja III staadiumis (metastaatiliste LSide esinemise korral) juba 60% (1). Samuti

määrab LSide staatus edasise ravitaktika. Regionaalsete LSide metastaaside olemasolu korral parandab patsiendi elulemust oluliselt adjuvantne keemiaravi, samas ei vaja I ja II staadiumi haiged enamasti adjuvantravi (2).

KRV staadiumi adekvaatseks hindamiseks on rahvusvaheline vähitõrjeühing (UICC), Ameerika ühine vähikomitee (AJCC) ja USA riiklik vähiinstituut (NCI) 2000. aastal kinnitanud rahvusvahelise konsensusdokumendi, mille järgi on soovitatav vähemalt 12 LSi histoloogiline hindamine operatsioonipreparaadis (3). Siiski jääb praktikas uuritud LSide arv sageli sellest arvust väiksemaks. Esitatud kliinilises kontekstis

on eriti oluline, et uuritud LSide arv on iseseisev prognostiline tegur, mis mõjutab otseselt patsientide ravi ja elulemust (4, 5).

LSe otsitakse preparaadist tavaliselt vaatluse ja palpatsiooni meetodil. Mitte-suurenenud LSide leidmine soolekinnisti rasvkoos on patoloogile keeruline ülesanne, kuna need on rasvkoega üsna sarnase konsistentsi ja värvusega. LSide leidmist mõjutavad mitmed tegurid, sh patsiendi vanus ja kehamassi indeks, eelnev neoadjuvantravi, operatsiooni maht ja operatsioonipreparaadi kvaliteet ning patoloogi oskused. Uuringud on näidanud, et õpetavates ja spetsialiseeritud keskustes leitakse operatsioonipreparaatides LSe enam kui teistes haiglates (6, 7). LSide uurimise parandamiseks on kasutatud erinevaid tehnikaid, sh mesenteriaalset rasva lahustavaid meetodeid ja vahimeeslümfiõlme biopsiat. Nimetatud meetodid on aja- ja ressursimahukad ning küsitava tulemuslikkusega. Seetõttu on nende rakendamine igapäevases praktikas piiratud (8–10). 2007. aastal kirjeldati esimest korda operatsioonipreparaadi intraarteriaalselt metüleensinisega värvimist (MSV) kui lihtsat ja efektiivset võimalust LSide leidmise parandamiseks (11, 12). Sellisel viisil värvuvad ka väikesed LSid intensiivselt siniseks ja on hästi eristatavad kollakasroheline rasvkoos foonil. Lisaks aitab preparaadi värvimine makroskoopiliselt hinnata kasvaja infiltratsiooni sügavust ning mesorektumi terviklikkust pärasoole operatsioonipreparaatides. 2010. aasta septembrist võtsime MSV kasutusele ka TÜ Kliinikumi hematoloogia-onkoloogia kliiniku kirurgilise onkoloogia osakonnas.

EESMÄRK

Katseprojekti eesmärgiks on hinnata MSV kasutamise tõhusust onkoloogilises mahus resetseeritud KRV operatsioonipreparaatides olevate LSide arvu ja suuruse selgitamisel, samuti LSi metastaasidega patsientide arvu ning LSi metastaaside olemasolu ja LSide suuruse seose kindlakstegemisel.

MATERJAL JA MEETODID

Alates 2010. aasta septembrist teostati poole aasta vältel TÜ Kliinikumi hematoloogia-onkoloogia kliiniku kirurgilise onkoloogia osakonnas kõigi onkoloogilises mahus resetseeritud KRV operatsioonipreparaatide MSV. Kokku värviti edukalt 60 patsiendi

operatsioonimaterjal. Operatsioonipreparaadi värvimine ebaõnnestus 6 juhul ning neid patsiente uuringusse ei kaasatud. Ebaõnnestumise põhjuseks oli arterisse kanüüli paigaldamise ebaõnnestumine või värvaine leke sulgemata arteriharudest.

Kui Märkli ja tema kolleegide kirjeldatud originaaluuringus toimus MSV-protseduur patoloogiaosakonnas (12), siis meie tegime MSV operatsioonitoas vahetult pärast preparaadi eemaldamist. Jämesoole preparaadi arteri(te)sse viidi veenikanüül 20 G. Kanüül fikseeriti ja hermetiseeriti ligatuuriga. Süstlasse lahustati 20 ml-s 50 mg metüleensinist (5 ml värvaine ampull ühes 15 ml füsioloogilise lahusega). Arteri(te)sse süstiti 10–20 ml lahust ning protseduuri edukust kinnitas vaskulaarse võrgustiku ja soole serooskelme kohene värvumine siniseks. Preparaat toimetati haigla patoloogiateenistusse, kus patoloog fikseeris selle pärast preparaadi osalist avamist 24 tunniks 10% formaliinilahuses.

Kõikide histoloogilises preparaadis leitud LSide diameeter mõõdeti ning jagati 6 rühma: 0–2 mm, 2–4 mm, 4–6 mm, 6–8 mm, 8–10 mm ja > 10 mm. Kõiki soolekinnistis leitud värvunud LSe (vt foto 1) uuriti histoloogiliselt ja kirjeldati metastaatilised LSid suuruse järgi. N-positiivsust ehk kasvaja metastaaside esinemist regionaalsetes lümfiõlmedes uuriti algkolde erineva suurusega (T1–T4) rühmades. Samuti hinnati LSide



Foto 1. Kaks metüleensinisega värvunud lümfiõlme (diameeter üle 5 mm) jämesoole operatsioonipreparaadis.

arvu eraldi neoadjuvantravi saanud ja mitte saanud rektumikartsinoomiga patsientidel ning vaadeldi ka LSide arvu erineva algkolde lokaliseerimisega rühmades.

Uuringuks saadi TÜ inimuuringute eetika komiteelt luba (nr 198/T-23, välja antud 22.11.2010).

TULEMUSED

Keskmine uuritud LSide arv MSV-preparaatides oli 27,4, kusjuures minimaalne LSide arv preparaadis oli 0 ja maksimaalne 80. Soovituslikud 12 ja enam LSi leiti 88%-l (53/60) juhtudest.

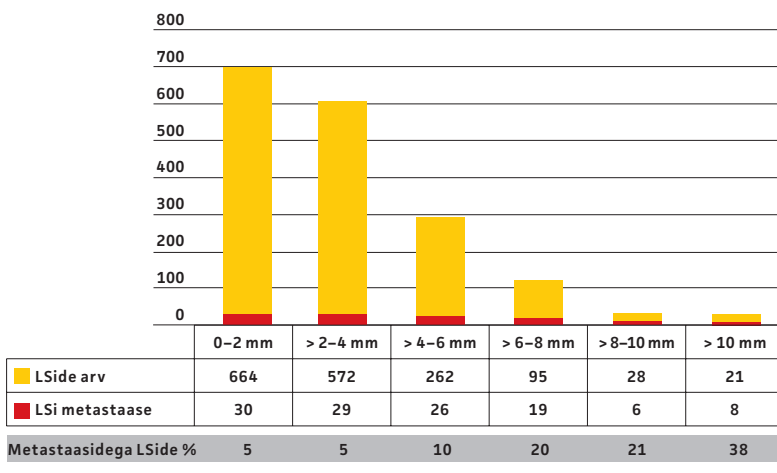
Metastaatilised LSid või tuumori deposiidid esinesid 47%-s (28/60) uuritud operatsioonipreparaatidest. Kõigist uuritud LSidest 75% olid väikesed, diameetriga ≤ 4 mm (vt joonis 1). Metastaatilistest LSidest 50% olid väikesed (vt joonis 2). N-positiivsetest juhtudest olid omakorda 18%-l (5/28) metastaasid leitavad ainult väikestes LSides. Suuremates LSides oli metastaaside leidmise tõenäosus suurem (vt joonis 1).

T1 ja T2 faasi algkolde levikuga kasvaja esines kahel juhul, mõlemad olid N-negatiivsed. Algkolde T3-ulatusega levik esines 43 juhul, millest 44% (19/43) olid N-positiivsed ning T4-alkolle esines 10 juhul, millest 70% (7/10) olid N-positiivsed. Vähem kui 12 LSi leiti 7 haigel, kellest 5 olid saanud neoadjuvantset keemia- ja kiiritusravi lokaalselt levinud pärasoolevähi tõttu. Rektumikartsinoomiga neoadjuvantset keemia- ja kiiritusravi saanud patsiente oli 11. Neil oli keskmine uuritud LSide arv 14,0 ja enam kui 12 LSi tuvastati 55%-l (6/11) juhtudest. Rektumikartsinoomiga neoadjuvantset keemia- ja kiiritusravi mittesaanud patsiente oli 12. Neil oli keskmine uuritud LSide arv 26,2 ja enam kui 12 LSi leiti neil 83%-l (10/12) juhtudest.

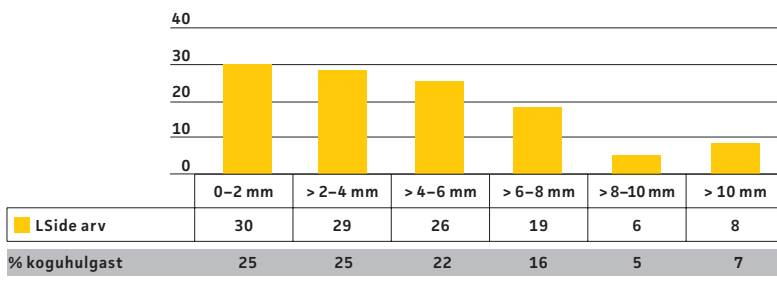
Parempoolne või laiendatud parempoolne hemikolektoomia oli tehtud 29 juhul, keskmine tuvastatud LSide arv selles rühmas oli 32. Vasempoolne hemikolektoomia oli tehtud 8 juhul keskmise tuvastatud LSide arvuga 30. Rektumi eesmine reseksioon või abdominoperineaalne ekstirpatsioon oli tehtud 23 juhul keskmise tuvastatud LSide arvuga 20.

ARUTELU

On teada, et KRV-patsientide elulemus sõltub uuritud LSide arvust. USA-s 2003. aastal avaldatud uuringus leiti, et T3N0M0 jämesoolevähi patsientide elulemus varieerus oluliselt ning sõltus uuritud LSide arvust, olles 1–2 uuritud LSi korral 64% ja üle 25 uuritud LSi korral juba 86% (4). Hollandis avaldatud 2010. aasta uuringus oli I–II staadiumi (N0) KRV patsientide 5 aasta elulemus 1–3 uuritud LSi korral 64% ning 19 ja rohkema uuritud LSi korral 80% (5). Vähesed uuritud LSide arvu ja väikese elulemuse seose võimalikke põhjuseid mainiti eelviidatud artiklites mitu: staadiumi alahindamise tõttu saamata jäänud adjuvantravi, halvem organismi immuunvastus kasvajale vähesed LSidega patsientidel, ebapiisav operatsioonimaht. Võimalikult suur uuritud LSide arv on eriti oluline kasvaja I–II staadiumi korral, et välistada haiguse staadiumi alahindamist. Kui LSi metastaas on juba leitud (III staadium), siis on adjuvantravi vajadus selgunud ja edasine suurema hulga LSide uurimine enam ravitaktika ja prognoosi ei muuda (13). Eelnimetatud Hollandi uuringus näidati, et suurema uuritud LSide arvu



Joonis 1. Metüleensinisega värvitud kolorektaalse vähi operatsioonipreparaadis uuritud lümfisõlmede (LS) jaotus ja metastaaside esinemine erineva diameetriga lümfisõlmedes.



Joonis 2. Metastaatiliste lümfisõlmede (LS) jaotus diameetri järgi metüleensinisega värvitud kolorektaalse vähi operatsioonipreparaadis. Püstteljel lümfisõlmede absoluutarv.

korral kasvab ka N-positiivsete patsientide osakaal. Seetõttu on oluline rõhutada, et patoloog ei tohi piirduda vaid soovitusliku 12 LSi uurimisega, vaid peab leidma ja uurima nii palju LSe kui võimalik (5). Siinkohal võib tuua näitena meie uuringus osalenud patsiendi, kellel uuriti kokku 80 LSi ja leiti vaid üks 2 mm diameetriga metastaatiline LS.

1990. aastal toimunud gastroenteroloogide maailmakongressil esitati ettepanek minimaalselt 12 LSi histoloogiliseks hindamiseks KRV-operatsioonipreparaatides (14). 2000. aastal kinnitati see nõue UICC, AJCC ja NCI rahvusvahelises konsensusdokumendis (3). Keskmise uuritud LSide arv on KRV diagnostikas sellest ajast järk-järgult kasvanud. Siiski nähtub rahvusvahelistest publikatsioonidest, et sageli ei ole uuritud LSide arv osutunud piisavaks. USAs 2001. aastal korraldatud uuringus oli 12 ja rohkem LSi uuritud ainult 44%-l haigetest, 2004. aasta Rootsi uuringus 67%-l, 2007. aasta Hollandi uuringus 52%-l ja 2007. a USA uuringus 72%-l (15–18). Olukord Eestis on olnud veelgi halvem: 1997. aastal Eestis diagnoositud kõikidest KRV-patsientide preparaatidest oli 12 ja rohkem LSi uuritud kõigest 2%-l juhtudest (19). TÜ Kliinikumi kirurgilise onkoloogia osakonnas tehtud prospektiivses publitseerimata uuringus 2009. aastal oli keskmine uuritud LSide arv 11 (minimaalne 0, maksimaalne 31 LSi) ning 12 ja rohkem LSi oli uuritud juba 43%-l juhtudest. Käesolevas uuringus MSV kasutamisel oli keskmine uuritud LSide arv 27,4 ning 12 ja rohkem LSi oli uuritud 88%-l juhtudest. Seega läheneb MSV abil saavutatud tulemus rahvusvahelisele konsensusotsusele.

Kui võrrelda käesoleva uuringu tulemusi Märkli originaaluuringu MSV-grupi tulemustega (12), siis Märkli uuringus oli keskmine LSide arv suurem (35 vs meie uuringu 27,4 LSi). 12 ja rohkem LSi oli Märkli uuringus leitud 96%-l ja meie uuringus 88%-l juhtudest. Sellist erinevust võib seletada õppimiskõveraga.

Kõikidest uuritud LSidest 75% ja metastaatilistest LSidest 50% olid käesolevas uuringus väikesed (diameeter ≤ 4 mm). Ilmselt on MSV abil saavutatud suurem uuritud LSide arv eelkõige väikeste LSide parema avastamise tõttu. Seda kinnitab ka Märkli uuring, kus on näidatud, et MSV-rühmas on LSe enam leitud just tänu väikeste LSide paremale avastamisele (12).

Olulise praktilise tähendusega on leid, et N-positiivsetest juhtudest tervelt 18%-l (5/28) olid metastaasid leitavad ainult väikestes LSide. On võimalik, et värvimata preparaadis oleksid väikesed metastaatilised LSi jäänud tuvastamata, kasvaja staadium seetõttu alahinnatud ja patsiendid jäänud seepärast adjuvantravita.

Pärasoolevähi tõttu neoadjuvantravi saanud patsientidel leitakse kirjanduse andmetel operatsioonipreparaatides vähem LSe. Selle põhjuseks peetakse kiiritusravist põhjustatud immuunvastust, LSide fibroseerumist ja diameetri vähenemist, mis muudab nende leidmise mesorektumist keeruliseks (20, 21). Käesolevas uuringus oli neoadjuvantravi haigetel keskmine LSide arv 14 ja üle 12 LSi leiti 55%-l haigetest. Neoadjuvantravi mittesaanutel oli keskmine LSide arv 26 ja üle 12 LSi leiti 83%-l haigetest. 7 juhust, kellel leiti alla 12 LSi, olid 5 saanud neoadjuvantravi. Saadud tulemused kinnitavad varasemate uuringute tulemusi.

Käärsoolevähi preparaatides oli käesolevas uuringus keskmine leitud LSide arv üle 30, pärasoole preparaatides 20. Seda erinevust võib seletada asjaoluga, et pärasoolevähi raviskeemi kuulub neoadjuvantravi lokaalse leviku tunnuste esinemise korral, käärsoolevähk enamasti neoadjuvantravi ei vaja (22, 23).

MSV teostamiseks on vajalikud järgmised lisavahendid: üks ampull metüleensinist, veenikanüül, süstal, füsioloogiline lahus, ligatuur. Protseduuri tegemiseks kulub 3–5 minutit. Seega on MSV odav ja vähe aega nõudev protseduur, andes samas märkimisväärse efekti. Kui võrrelda MSVd rasva lahustavate meetoditega, on viimased küsitava tulemuslikkusega, aja- ja töömahukad ning uuringu vastus hilineb päevi (8, 9). Vahimeeslümfiõlme biopsia on osutunud kolorektaalkasvajate puhul ebatäpseks tulemuse tuntava valenegatiivsuse tõttu (10).

Kui Märkli ja kolleegide originaaluuringus toimus MSV-protseduur patoloogiaosakonnas (12), siis meie teostasime MSV operatsioonitoas vahetult pärast preparaadi eemaldamist. Kiire tegutsemisega lootsime vähendada väikeste arteriharude umbumise võimalust.

Operatsioonipreparaadi uurimisel MSV-meetodil võiks olla perspektiivi ka teiste kasvaja paikmete korral, nii on kirjanduses andmeid selle tehnika kasutamisest LSide leidmiseks ka maovähi preparaatides (24).

KOKKUVÕTE JA JÄRELDUSED

Kolorektaalvähi operatsioonipreparaatide värvimine intraarteriaalselt süstitud metüleensinisega on odav, lihtne ja vähe aega nõudev protseduur, mis annab häid ja rahvusvahelise konsensusotsuse standardi lähedasi tulemusi regionaalsete lümfisõlmede otsimisel. Kirjeldatud meetod võimaldab usaldusväärselt määrata pahaloomulise kasvaja staadiumit ning võib parandada haigete ravi ja prognoosi.

VÕIMALIKU HUVIKONFLIKTI DEKLARATSIOON

Autoritel puudub huvikonflikt seoses käesoleva uuringu teostusega.

SUMMARY

Methylene blue *ex vivo* staining of resected colorectal cancer specimens to enhance lymph node retrieval

Heigo Reima¹, Helgi Saar², Jaan Soplepmann^{3,4}

Aim. Metastatic involvement of regional lymph nodes is a major prognostic factor in colorectal cancer influencing also treatment strategy. International consensus standard is retrieval of at least 12 lymph nodes from resected colorectal specimens. The aim of the present study was to assess lymph node yield and metastatic involvement of lymph nodes in colorectal specimens stained with intraarterial methylene blue.

Materials and methods. Sixty consecutive methylene blue stained colorectal specimens were analysed for lymph node count, diameter and metastatic involvement.

Results. Methylene blue staining enabled to detect 12 and more lymph nodes in 88% of the colorectal specimens with a mean number of detected lymph nodes 27.4. Metastatic lymph node involvement was detected in almost half the cases (47%). Of all lymph nodes 75% and of the metastatic lymph nodes 50% were small (diameter \leq 4mm). There was metastatic involvement occurred in only small lymph nodes in 18% of the N-positive patients.

Conclusions. Methylene blue staining is a simple, cheap and quick procedure enabling to retrieve 12 or more lymph nodes in the vast majority of colorectal specimens.

KIRJANDUS/REFERENCES

- O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer 6th ed. Staging. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:1420–5.
- Andre T, de Gramont A. Study Group of Clinical Research in Radiotherapies Oncology, Oncology Multidisciplinary Research Group. An overview of adjuvant systemic chemotherapy for colon cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2004;4 Suppl 1:S22–8.
- Nelson H, Petrelli N, Carlin A, et al. Guidelines 2000 for colon and rectal cancer surgery. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:583–96.
- Swanson RS, Compton CC, Stewart AK, et al. The prognosis of T3N0 colon cancer is dependent on the number of lymph nodes examined. *Ann Surg Oncol* 2003;10:65–71.
- Elferink MA, Siesling S, Visser O, et al. Large variation between hospitals and pathology laboratories in lymph node evaluation in colon cancer and its impact on survival, a nationwide population-based study in the Netherlands. *Ann Oncol* 2010;22:110–7.
- Nathan H, Shore AD, Anders RA, et al. Variation in lymph node assessment after colon cancer resection: patient, surgeon, pathologist or hospital? *J Gastrointest Surg* 2011;15:471–9.
- Bilimoria KY, Bentrem DJ, Stewart AK, et al. Lymph node evaluation as a colon cancer quality measure: a national hospital report card. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:1310–7.
- Jass JR, Miller K, Northover JMA. Fat clearance method versus manual dissection of lymph nodes in specimens of rectal cancers. *Int J Colorectal Dis* 1986;1:155–6.
- Gregurek SF, Wu HH. Can GEFW solution improve the retrieval of lymph nodes from colorectal cancer resections? *Arch Pathol Lab Med* 2009;133:83–6.
- Bembek AE, Rosenberg R, Wagler E, et al. Sentinel lymph node biopsy in colon cancer. A prospective multicenter trial. *Ann Surg* 2007;245:858–63.
- Märkl B, Kerwel TG, Wagner T, et al. Methylene blue injection into the rectal artery as a simple method to improve lymph node harvest in rectal cancer. *Modern Pathology* 2007;20:797–801.
- Märkl B, Kerwel TG, Jähnig HG, et al. Methylene blue assisted lymph node dissection in colon specimens. *Am J Clin Pathol* 2008;130:913–9.
- Tsikitis VL, Larson DL, Wolff BG, et al. Survival in stage iii colon cancer is independent of the total number of lymph nodes retrieved. *J Am Coll Surg* 2009;208:42–7.
- Fielding LP, Aresnault PA, Chapuis PH, et al. Working party report to the World Congress of Gastroenterology, Sydney 1990. *J Gastroenterol Hepatol* 1991;6:325–44.
- Baxter NN, Virnig DJ, Rotahenberger DA, et al. Lymph node evaluation in colorectal cancer patients: a population-based study. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:219–25.
- Derwinger K, Carlsson G, Gustavsson B. Stage migration in colorectal cancer related to improved lymph node assessment. *Eur J Surg Oncol* 2007;33:849–53.
- van Steenbergen LN, van Lijnschoten G, Rutten HJ, et al. Improving lymph node detection in colon cancer in community hospitals and their pathology department in southern Netherlands. *Eur J Surg Oncol* 2010;36:135–40.
- Kukreja SS, Esteban-Agusti E, Velasco JM, et al. Increased lymph node evaluation with colorectal cancer research. *Arch Surg* 2009;144:612–7.
- Innos K, Soplepmann J, Suuroja T, et al. Improved survival for colon cancer, but not for rectal cancer in Estonia: role of staging and treatment. *Acta Oncologica* (submitted for publication).
- de la Fuente SG, Manson RJ, Ludwig KA, et al. Neoadjuvant chemoradiation for rectal cancer reduces lymph node harvest in proctectomy specimens. *J Gastrointest Surg* 2009;13:269–74.
- Marks JH, Valsdottir EB, Rafter AA, et al. Fewer than 12 lymph nodes can be expected in a surgical specimen after high-dose chemoradiation therapy for rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2010;53:1023–9.
- NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Rectal cancer. Version 4.2011. Saadaval: http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/rectal.pdf
- NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Colon cancer. Version 3.2011. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon.pdf
- Märkl B, Wunsch K, Hebig K-U, et al. Methylene blue-assisted lymph node dissection in combination with ex vivo sentinel lymph node mapping in gastric cancer. *Histopathology* 2009;54:433–41.

¹ Surgery Clinic, Tartu University Hospital, Tartu, Estonia,

² Department of Pathology, Tartu University Hospital, Tartu, Estonia,

³ Haematology and Oncology Clinic, Tartu University Hospital, Tartu, Estonia,

⁴ Department of Haematology and Oncology, University of Tartu, Tartu, Estonia

Correspondence to: Heigo Reima reima@vmh.ee

Keywords: colorectal cancer, regional lymph nodes, methylene blue, diagnostics