



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Fluorescence-guided cancer surgery using clinical available and innovative tumor-specific contrast agents

Tummers, Q.R.J.G.; Tummers Q.R.J.G.

### Citation

Tummers, Q. R. J. G. (2017, October 11). *Fluorescence-guided cancer surgery using clinical available and innovative tumor-specific contrast agents*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/53235>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/53235>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/53235> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Tummers, Q.R.J.G.

**Title:** Fluorescence-guided cancer surgery using clinical available and innovative tumor-specific contrast agents

**Issue Date:** 2017-10-11



# Appendices

**Nederlandse samenvatting en  
toekomstperspectieven**

**List of publications**

**Curriculum vitae**

**Dankwoord**



**NEDERLANDSE SAMENVATTING  
EN TOEKOMSTPERSPECTIEVEN**



Wanneer de chirurg tijdens het opereren wordt voorzien van betere en meer objectieve visuele informatie, kan dit de kwaliteit van de oncologische chirurgie verbeteren. Fluorescentie-geleide chirurgie kan hierbij een belangrijke rol spelen, doordat het tijdens operaties tumor weefsel, lymfklieren en vitale structuren kan identificeren.

Dit proefschrift bespreekt een aantal belangrijke indicaties binnen de oncologie chirurgie, waarbij klinisch beschikbare nabij-infrarode (NIR) fluorescente contrastmiddelen gebruikt kunnen worden om operaties te optimaliseren (Deel 1). Daarnaast wordt de klinische translatie besproken van nieuw ontwikkelde tumor-specifieke, fluorescente contrastmiddelen, die de intra-operatieve tumordetectie verbeteren (Deel 2).

### **Deel 1: Toepassingen van klinisch beschikbare fluorescente contrastmiddelen in de oncologische chirurgie**

**Hoofdstuk 2** beschrijft de detectie van de schildwachtklier tijdens maagkanker operaties. Het lymfedrainagepatroon bij maagkanker laat zich lastig voorspellen. Daarom wordt naast een totale of partiële gastrectomie vaak een uitgebreide lymfadenectomie uitgevoerd. In onze studie werd indocyanine groen (ICG) gekoppeld aan een nanocolloid. Hierdoor wordt de hydrodynamische diameter vergroot, en verbetert de opname in de schildwachtklier. ICG-Nanocoll werd vervolgens subserosaal geïnjecteerd rond de tumor, waarna beeldvorming van lymfvaten en -klieren plaatsvond. In 21 van de 22 patiënten werd op zijn minst één schildwachtklier gevonden. Daarbij viel het op dat in 8 van de 21 patiënten schildwachtklieren buiten het geplande resectievlak gevonden werden, waarvan er bij twee patiënten tumorcellen bevatten.

In **hoofdstuk 3** wordt de intra-operatieve beeldvorming van borstkanker met behulp van methyleen blauw (MB) beschreven. Alhoewel het exacte mechanisme van accumulatie van MB niet geheel duidelijk is, werd op basis van preklinisch onderzoek de hypothese gevormd dat het met behulp van MB mogelijk zou kunnen zijn om borstkanker te identificeren. Methyleen blauw heeft dezelfde fysisch-chemische eigenschappen als  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI, een SPECT radiodiagnosticum dat met een sensitiviteit van 83 - 90% borstkanker kan identificeren in preoperatieve setting. In onze studie werd bij 20 van de 24 patiënten met succes de borstkanker laesie geïdentificeerd in het resectie preparaat. Daarbij werd bij 2 patiënten fluorescent borstkanker weefsel in het

wondbed gezien. En hoewel MB een veelbelovend middel is om borstkanker zichtbaar te maken, kan de introductie van nieuwe stoffen die specifiek aan een bepaalde tumorreceptor binden de intra-operatieve beeldvorming van borstkanker nog nauwkeuriger maken.

In **hoofdstuk 4** wordt de identificatie van levermetastasen van ooglanelanoom tijdens laparoscopische leverchirurgie beschreven. Door ICG 24 uur voor operatie toe te dienen, vormt zich een fluorescente ring rondom een maligne laesie. Dit komt doordat ICG uitgescheiden wordt door gezonde levercellen, maar gevangen raakt in de overgangszone tussen gezonde lever en metastase. Zelfs afwijkingen die onzichtbaar waren voor het menselijk oog, en die niet gevonden werden met preoperatieve CT of intra-operatieve echografie konden worden geïdentificeerd. Op deze manier maakte fluorescente beeldvorming het mogelijk om op een minimaal-invasieve manier patiënten te identificeren, die potentieel baat hebben bij een resectie, en hielp het bij het verkrijgen van tumorvrije resectie marges.

**Hoofdstuk 5** beschrijft de studie waarbij ICG werd gebruikt om hypofyse adenomen te identificeren tijdens transnasale transsfenoïdale selectieve adenomectomie. Gezonde hypofyse en hypofyse adenoom verschillen van elkaar in vascularisatie, wat mogelijk tot identificatie met ICG zou kunnen leiden. Bij 9 van de 10 patiënten met een microscopisch bewezen hypofyse adenoom werd een sterker fluorescent signaal gezien in de gezonde hypofyse dan in het adenoom. Bij twee patiënten kon de daadwerkelijke resectie van het adenoom onder fluorescentie-geleide plaatsvinden. Een van de beperkingen bij deze studie was dat de beschikbare endoscoop nog geen gelijktijdige weergave van kleur en fluorescentie beelden kon laten zien. Verdere optimalisatie van contrastmiddelen en camerasystemen kan de toegevoegde waarde van fluorescente beeldvorming tijdens hypofyse chirurgie nog verder verbeteren.

In **hoofdstuk 6** wordt een klinische casus gepresenteerd waarbij MB gebruikt werd om een paraganglioom, een zeldzame neuro-endocriene tumor, te detecteren. Tijdens operatie bleek het zelfs mogelijk een lokale metastase te identificeren, die niet zichtbaar was voor het menselijk oog.

Voortgaand op de vergelijkbare biodistributie van MB en  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI, wordt in **hoofdstuk 7** de fluorescente beeldvorming tijdens bijschildklierchirurgie beschreven. Het bleek niet alleen mogelijk om bijschildklier adenomen te detecteren, maar ook normale schildklieren van slechts een millimeter groot werden gevonden. En hoewel recente ontwikkelingen met nieuwe

contrastmiddelen veelbelovend zijn, kan fluorescente beeldvorming met MB een belangrijke rol spelen tijdens bijschildklierchirurgie, totdat deze nieuwe stoffen daadwerkelijk klinisch gebruikt kunnen worden.

**Hoofdstuk 8** beschrijft het enhanced permeability and retention (EPR) effect, en de mogelijkheden hiervan bij de detectie van ovarium carcinoom. Het EPR effect is gebaseerd op het principe dat macromoleculen, zoals eiwitgebonden ICG, zich ophopen in tumor weefsel. Dit komt omdat tumor weefsel zich vaak kenmerkt door een toegenomen vasculaire permeabiliteit en verminderde lymfdrainage. Meerdere maligne laesies werden succesvol geïdentificeerd in onze studie. Het probleem daarentegen was dat er ook 13 niet-maligne laesies fluorescent werden. Dit resulteerde in een fout-positieve ratio van 62%. Door dit gebrek aan specificiteit is fluorescente tumor beeldvorming gebaseerd op het EPR effect niet toepasbaar in de kliniek. Stoffen die specifiek tumorweefsel binden, bijvoorbeeld door een bepaalde tumor-receptor te binden, kunnen dit probleem oplossen.

## **Deel 2: Klinische translatie van innovatieve tumor-specifieke fluorescente contrastmiddelen**

**Hoofdstuk 9** beschrijft het gebruik van EC17, een folaat analoog gekoppeld aan fluoresceïne, voor de intra-operatieve detectie van folaat receptor alfa (FR $\alpha$ ) positieve ovarium- en mammacarcinomen. EC17 werd 2 tot 3 uur voor operatie intraveneus toegediend, wat resulteerde in helder fluorescent ovariumcarcinoom weefsel tijdens operatie. Hierdoor konden 16% meer maligne laesies geresceerd worden, en konden zelfs 70% meer laesies gedetecteerd worden op postoperatieve beeldanalyse. Bij mammacarcinoom is de over-expressie van de FR $\alpha$  lager dan bij ovariumcarcinoom. Daarom werd op preoperatief verkregen biopten eerst het expressie profiel van de FR $\alpha$  bepaald, alvorens patiënten definitief te includeren. Deze aanpak, waarbij de specifieke eigenschappen van de tumor van een individuele patiënt centraal staan, garandeert dat alleen patiënten geïnccludeerd worden die potentieel baat hebben bij het gebruik van het tumor-specifieke contrastmiddel. Net als bij ovariumcarcinoom werd bij mammacarcinoom een duidelijk fluorescent signaal in de tumor gezien. Er werd echter ook autofluorescentie van gezond weefsel gezien op een golflengte van 500nm, wat resulteerde in fout-

positieve laesies. Daarnaast bemoeilijkte de autofluorescentie het maken van onderscheid tussen maligne weefsel en gezond weefsel. Dit probleem zou opgelost kunnen worden door fluorescente beeldvorming in het nabij-infrarode lichtspectrum te doen.

In **hoofdstuk 10** wordt daarom het gebruik van een nieuw ontwikkeld FRa specifiek contrastmiddel beschreven. OTL38 bestaat uit een folaat analog, maar nu gekoppeld aan een NIR fluorescente stof (fluorescent op 800nm). Eerst werden verdraagbaarheid en farmacokinetiek in huid en bloed onderzocht in een gerandomiseerde, placebo-gecontroleerde studie in gezonde vrijwilligers, waarbij oplopende doseringen getest werden. Op basis van dit onderzoek werden 3 doseringen geselecteerd en vervolgens toegediend aan 12 patiënten met ovariumcarcinoom, die gepland stonden voor debulking chirurgie. Er werden duidelijke fluorescente FRa positieve ovariumcarcinomen en metastasen gezien. Dit resulteerde in de resectie van 29% meer maligne laesies, die niet met het blote oog gezien of gevoeld konden worden. Bij het gebruik van OTL38 werd nauwelijks achtergrondfluorescentie gezien.

## ALGEMENE CONCLUSIE

Het gebruik van ICG en MB bij intra-operatieve fluorescente beeldvorming werd onderzocht voor een aantal belangrijke indicaties binnen de oncologische chirurgie. Beeldvorming met behulp van ICG resulteerde in accurate detectie van lever tumoren, en identificatie van schildwachtklieren bij maagkanker met hoge contrastratio's en langdurig fluorescent signaal. Op basis van onze gegevens zou fluorescente beeldvorming moeten worden toegepast in de kliniek voor deze indicaties om de kwaliteit van zorg voor kankerpatiënten te verbeteren. Met het gebruik van MB konden bijnieradenomen, neuro-endocrine tumoren en borstkanker laesies succesvol geïdentificeerd worden. De introductie van meer tumor-specifieke contrastmiddelen kan de nauwkeurigheid en beeldvorming waarschijnlijk verder verbeteren, maar tot die tijd kan MB gebruikt worden als ondersteuning bij bijvoorbeeld lastige casuïstiek.

Het gebruik van EC17 en OTL38 zorgde voor nauwkeurige en zeer specifieke intra-operatieve beeldvorming van ovariumcarcinoom. Daarbij werden hoge contrastratio's gezien, en bleef het fluorescente signaal langdurig aanwezig.

Het gebruik van deze contrastmiddelen van laagmoleculair gewicht zorgde voor snelle ophoping in tumorweefsel, terwijl het snel werd uitgescheiden uit de rest van het lichaam. Daarnaast werd bij beeldvorming in het nabij-infrarode spectrum nauwelijks achtergrond signaal of autofluorescentie gezien. Wanneer binnen nieuwe studies zowel gezonde personen als patiënten betrokken worden, kan op snelle en efficiënte manier onderzoek gedaan worden naar de optimale dosis, bereiding van het contrastmiddel en tijdsspanne van beeldvorming. Dit bespoedigt de introductie van nieuw ontwikkelde contrastmiddelen in klinische studies.

## TOEKOMSTPERSPECTIEVEN

De afgelopen jaren zijn er meerdere indicaties vastgesteld waarbij klinisch beschikbare fluorescente contrastmiddelen gebruikt kunnen worden. ICG en MB hebben de potentie om de kwaliteit van oncologische operaties te verbeteren, doordat meer maligne laesies gevonden kunnen worden, de operatietijd verkort kan worden en iatrogeen letsel voorkomen zou kunnen worden door betere identificatie van vitale structuren. En hoewel het aantal indicaties beperkt is door de intrinsieke eigenschappen van deze reeds beschikbare contrastmiddelen, kan de techniek wel direct worden toegepast bij bijvoorbeeld leverchirurgie, schildwachtklieprocedures of lastige operaties aan de galwegen. Totdat nieuw ontwikkelde ligand-bindende, tumor-specifieke stoffen ontwikkeld zijn en gebruikt mogen worden in patiënten, kan tumor identificatie verbeterd worden bij bijvoorbeeld borstkanker-, bijschildklier- en paraganglioom chirurgie, zoals beschreven in dit proefschrift.

De introductie van ligand-bindende, tumor-specifieke contrastmiddelen heeft de deur geopend naar nog preciezere intra-operatieve tumor identificatie. Zolang de juiste tumor- of weefsel specifieke liganden maar gevonden worden, kan zo mogelijk elke structuur zichtbaar gemaakt worden die een chirurg wil zien tijdens een operatie. Zoals beschreven in onze EC17 en OTL38 studies, waarbij een folaat analoog gekoppeld werd aan een fluorofoor, bleek het mogelijk zeer specifieke tumor imaging te verzorgen, binnen 2 tot 3 uur na toediening. Bovendien bleef het fluorescente signaal en de contrastratio voor minstens 6 uur van zeer goede kwaliteit.

### Contrast middelen

Wanneer men nauwkeurige tumor detectie wil verkrijgen, is het belangrijk om bindingscapaciteit, biodistributie en de farmacokinetiek van een contrastmiddel te optimaliseren. Daarom worden veel verschillende soorten stoffen onderzocht, zoals monoclonale antilichamen, antilichaam fragmenten zoals enkel-stengs antilichaam fragmenten en peptiden<sup>1-5</sup>.

Al deze stoffen hebben hun eigen farmacokinetische profiel en half-waarde tijd, en daarmee verschillende optimale momenten voor beeldvorming. Rosenthal et al.<sup>5</sup> hebben het gebruik van cetuximab-IRDye800 bij hoofd-hals tumoren beschreven, waarbij de operatie 3 dagen na toediening van de stof moest plaatsvinden vanwege de lange half-waarde tijd van deze op een monoklonaal antilichaam gebaseerde stof (half-waarde tijd 24 – 32 uur, moleculair gewicht 150 kDa)<sup>6</sup>. Daarbij moesten relatief hoge doseringen gebruikt worden om een adequate contrastratio te krijgen (tot wel 25% van de therapeutische dosis; 62,5 mg/m<sup>2</sup>).

Toediening van het folaat analoge OTL38 (half-waarde tijd 2 – 3 uur, moleculair gewicht 1.4 kDa) resulteerde in een sterk fluorescent signaal na slechts 2 tot 3 uur, wat aanhield voor minstens 6 uur (optimale dosis 0,0125 mg/kg). En vanwege de snelle klaring van de stof werd een laag achtergrond signaal gezien. Het lijkt dat deze eigenschappen ideaal zijn voor nauwkeurige tumor imaging. Toekomstige studies zullen moeten uitwijzen welk soort stof optimaal is, en mogelijk verschilt dit ook per chirurgische indicatie.

Idealiter zou men één stof ontwikkelen die bijna alle tumoren bindt. Het blijft echter een enorme uitdaging om een stof te ontwikkelen die zeer specifiek kankerweefsel bindt, en daarnaast uitgescheiden wordt uit de rest van het lichaam. Bovendien kunnen de expressie profielen van receptoren sterk wisselen. Bij ovarium carcinoom bijvoorbeeld, is meer dan 90% van alle tumoren FR $\alpha$  positief. Het voordeel hiervan is dat bijna alle patiënten baat hebben bij het gebruik van een FR $\alpha$  bindend contrastmiddel. Bij tumoren waarbij het expressie profiel meer divers is, moet een andere benadering worden gekozen. Zo kunnen preoperatief verkregen biopten gebruikt worden voor het bepalen van het expressie profiel, wat resulteert in een zeer precieze benadering per individuele patiënt. Dit werd bijvoorbeeld gedaan bij de borstkanker patiënten in onze EC17 studie. Daarnaast kunnen cocktails van verschillende contrastmiddelen gebruikt worden, of stoffen ontwikkeld worden die tegelijkertijd meerdere receptoren kunnen binden, doordat ze

multiple liganden hebben gekoppeld aan één fluorofoor. Dit zijn interessante ontwikkelingen, waarbij bedacht moet worden dat elke verandering aan een stof consequenties voor bindingscapaciteit en fluorescente eigenschappen heeft.

Een van de belangrijkste beperkingen van fluorescente beeldvorming heeft betrekking op de dieptepenetratie. In het zichtbare licht bedraagt deze enkele micrometers, en dit verbetert tot ongeveer een centimeter in het NIR lichtspectrum. Om deze beperking te overwinnen zijn er ontwikkelingen gaande waarbij fluorescente beeldvorming gecombineerd wordt met andere diagnostische modaliteiten, de zogenaamde multimodale beeldvorming (beeldvorming gecombineerd met bijvoorbeeld positron emission tomography (PET) of single-photon emission computed tomography (SPECT) stoffen)<sup>7</sup>. Door deze combinaties wordt het mogelijk om zowel preoperatieve chirurgische planning te verzorgen, als tijdens operaties naar dieper gelegen laesies te navigeren, terwijl daarbij real-time onderscheid gemaakt wordt tussen tumor en gezond weefsel. In de literatuur zijn inmiddels combinaties beschreven met foto-acoustische beeldvorming, magnetic resonance imaging, PET, SPECT en zelf tri-modale beeldvorming<sup>8</sup>. De meeste van deze stoffen bevinden zich momenteel echter nog in preklinische fase van ontwikkeling.

### **Camerasystemen**

Succesvolle fluorescente beeldvorming is afhankelijk van de combinatie van zowel contrastmiddel als camera-systeem. Daarom is de ontwikkeling van camerasystemen essentieel voor de algemene acceptatie en introductie van fluorescentie-geleide chirurgie. De afgelopen jaren zijn door meerdere bedrijven en instituten camerasystemen ontwikkeld, allemaal met hun eigen voor- en nadelen<sup>9</sup>. Vooral in de endoscopische beeldvorming is nog veel te verbeteren, zoals aangegeven in hoofdstuk 4 en 5 van dit proefschrift. Bovendien kan het ontwikkelen van een meer gestandaardiseerde manier om camera's te vergelijken bijdragen aan het maken van nieuwe, verbeterde camerasystemen<sup>10</sup>.

### **Klinische implementatie**

Om de klinische implementatie van fluorescentie-geleide chirurgie te stroomlijnen is samenwerking essentieel. Daarom worden internationale verenigingen opgericht, zoals de International Society of Image Guided

Surgery, om wet- en regelgeving omtrent klinisch onderzoek en studieontwerp te bespreken en optimaliseren<sup>11;12</sup>. Zo moeten eindpunten in fase 1 studies bijvoorbeeld niet alleen focussen op veiligheid, maar ook op kwaliteit en eigenschappen van de beeldvorming.

Er is daarnaast een veelbelovende rol weggelegd voor de ontwikkeling van farmacokinetische en farmacodynamische modellen<sup>13-15</sup>. Deze modellen kunnen ons meer inzicht geven in alle verschillende variabelen die een rol spelen bij optimale tumor beeldvorming. Door informatie over grootte, halfwaardetijd en klaring van een stof, receptor dichtheid, tumorgrootte, bindingsconstante en eiwitbinding te combineren in een model, eventueel aangevuld met beeldvorming-specifieke eigenschappen als quantum yield en golflengte, kunnen mogelijk voorspellingen gedaan worden over de veiligheid en mogelijkheid tot tumor beeldvorming van een nieuw ontwikkelde stof. Ook zou eventueel een optimale dosis voorspeld kunnen worden. Hierdoor kunnen mogelijk fase 1 studies gedaan worden, waarbij minder gezonde vrijwilligers en patiënten nodig zijn. Ook zouden er misschien voorspellingen gedaan kunnen worden over welk camerasysteem het meest geschikt is voor een specifieke indicatie met een specifiek contrastmiddel. Op deze manier worden fase 1 studies veel efficiënter, en wordt de drempel om veelbelovende stoffen naar de kliniek te brengen lager.

### **Nieuwe klinische indicaties**

De behandeling van kanker vraagt om een multidisciplinaire aanpak waarbij chirurgie, systemische chemotherapie of immunotherapie en radiotherapie allemaal een belangrijke rol spelen<sup>16;17</sup>. Constant verbeterende neoadjuvante chemo- en radiotherapie hebben ertoe geleid dat er een toenemend aantal complete pathologische responses wordt gezien, in bijvoorbeeld rectum en slokdarm kanker<sup>18-20</sup>. Bij deze patiënten is geen vitaal tumor weefsel meer aanwezig, en zij hebben dus ook geen baat meer bij chirurgische resectie, terwijl deze procedures wel geassocieerd zijn met morbiditeit en mortaliteit. Wanneer een resectie bij de juiste patiënten achterwege kan blijven, heeft dit grote impact op de kwaliteit van leven van deze mensen.

Dit heeft geleid tot een cultuurverandering binnen de behandeling van kanker, waarbij ernaar gestreefd wordt om chirurgie achterwege te laten bij patiënten met een complete klinische respons, en zo orgaan-sparende behandeling mogelijk te maken. Hiervoor is het echter wel essentieel om

patiënten adequaat te selecteren, die een complete klinische respons hebben, en om ze te vervolgen. Meerdere studies beschrijven deze “Watch and Wait” policy bij rectum kanker<sup>21</sup>, en recent werd een internationale database opgericht om de resultaten van dit beleid te monitoren<sup>22</sup>. Moleculaire beeldvorming kan een grote rol spelen bij het selecteren en monitoren van patiënten, omdat het nog preciezere en objectievere informatie kan geven over de aanwezigheid van vitaal tumorweefsel in bijvoorbeeld littekenweefsel na chemoradiatie.

## CONCLUSIES

Met behulp van fluorescentie-geleide chirurgie kan tumorweefsel zichtbaar gemaakt worden, en kunnen meer maligne laesies gevonden worden, die anders onzichtbaar waren gebleven. Daarnaast ondersteunt de techniek de identificatie van lymfeklieren en vitale structuren. Nu moeten aanvullende studies, bij voorkeur gerandomiseerde onderzoeken, uitwijzen of deze verbeterde tumordetectie ook daadwerkelijk leidt tot verbeterde overleving en verminderde morbiditeit. Fluorescentie-geleide chirurgie wint snel aan populariteit, en hopelijk leidt een gezamenlijke aanpak tot verdere klinische implementatie en het verwerven van een standaard plek binnen de behandeling van kanker op korte termijn.

## REFERENTIES

1. Kelderhouse LE, Chelvam V, Wayua C et al. Development of tumor-targeted near infrared probes for fluorescence guided surgery. *Bioconjug Chem* 2013;24:1075-1080.
2. Altintas I, Kok RJ, Schiffelers RM. Targeting epidermal growth factor receptor in tumors: from conventional monoclonal antibodies via heavy chain-only antibodies to nanobodies. *Eur J Pharm Sci* 2012;45:399-407.
3. Choi HS, Gibbs SL, Lee JH et al. Targeted zwitterionic near-infrared fluorophores for improved optical imaging. *Nat Biotechnol* 2013;31:148-153.
4. Oliveira S, Heukers R, Sornkom J, Kok RJ, van Bergen En Henegouwen PM. Targeting tumors with nanobodies for cancer imaging and therapy. *J Control Release* 2013;172:607-617.
5. Rosenthal EL, Warram JM, de BE et al. Safety and Tumor Specificity of Cetuximab-IRDye800 for Surgical Navigation in Head and Neck Cancer. *Clin Cancer Res* 2015;21:3658-3666.
6. Zinn KR, Korb M, Samuel S et al. IND-directed safety and biodistribution study of intravenously injected cetuximab-IRDye800 in cynomolgus macaques. *Mol Imaging Biol* 2015;17:49-57.
7. Chi C, Du Y, Ye J et al. Intraoperative imaging-guided cancer surgery: from current fluorescence molecular imaging methods to future multi-modality imaging technology. *Theranostics* 2014;4:1072-1084.
8. Bai J, Wang JT, Rubio N et al. Triple-Modal Imaging of Magnetically-Targeted Nanocapsules in Solid Tumours In Vivo. *Theranostics* 2016;6:342-356.
9. Zhu B, Sevick-Muraca EM. A review of performance of near-infrared fluorescence imaging devices used in clinical studies. *Br J Radiol* 2015;88:20140547.
10. Pleijhuis R, Timmermans A, De JJ, de BE, Ntziachristos V, Van DG. Tissue-simulating phantoms for assessing potential near-infrared fluorescence imaging applications in breast cancer surgery. *J Vis Exp* 2014;5:1776.
11. Rosenthal EL, Warram JM, de BE et al. Successful Translation of Fluorescence Navigation During Oncologic Surgery: A Consensus Report. *J Nucl Med* 2016;57:144-150.
12. Snoeks TJ, van Driel PB, Keereweer S et al. Towards a successful clinical implementation of fluorescence-guided surgery. *Mol Imaging Biol* 2014;16:147-151.
13. Cohen A. Pharmacokinetic and pharmacodynamic data to be derived from early-phase drug development: designing informative human pharmacology studies. *Clin Pharmacokinet* 2008;47:373-381.
14. Danhof M, Alvan G, Dahl SG, Kuhlmann J, Paintaud G. Mechanism-based pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling-a new classification of biomarkers. *Pharm Res* 2005;22:1432-1437.
15. Wittrup KD, Thurber GM, Schmidt MM, Rhoden JJ. Practical theoretic guidance for the design of tumor-targeting agents. *Methods Enzymol* 2012;503:255-268.
16. Kapiteijn E, Marijnen CA, Nagtegaal ID et al. Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer. *N Engl J Med* 2001;345:638-646.
17. Mieog JS, van der Hage JA, van de Velde CJ. Preoperative chemotherapy for women with operable breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;CD005002.
18. Glynn-Jones R, Wallace M, Livingstone JI, Meyrick-Thomas J. Complete clinical response after preoperative chemoradiation in rectal cancer: is a "wait and see" policy justified? *Dis Colon Rectum* 2008;51:10-19.
19. Jin HL, Zhu H, Ling TS, Zhang HJ, Shi RH. Neoadjuvant chemoradiotherapy for resectable esophageal carcinoma: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2009;15:5983-5991.
20. O'Neill BD, Brown G, Heald RJ, Cunningham D, Tait DM. Non-operative treatment after neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer. *Lancet Oncol* 2007;8:625-633.
21. Pozo ME, Fang SH. Watch and wait approach to rectal cancer: A review. *World J Gastrointest Surg* 2015;7:306-312.
22. Beets GL, Figueiredo NL, Habr-Gama A, van de Velde CJ. A new paradigm for rectal cancer: Organ preservation: Introducing the International Watch & Wait Database (IWWD). *Eur J Surg Oncol* 2015;41:1562-1564.